

GIOVANA LONGO

INFLUÊNCIA DA ADIÇÃO DE LACTASE NA PRODUÇÃO DE IOGURTES

Dissertação apresentada como requisito parcial à obtenção do grau de Mestre em Tecnologia de Alimentos, Programa de Pós-Graduação em Tecnologia de Alimentos, Setor de Tecnologia, Universidade Federal do Paraná.

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Nina Waszczynskyj

CURITIBA

2006

GIOVANA LONGO

INFLUÊNCIA DA ADIÇÃO DE LACTASE NA PRODUÇÃO DE IOGURTES

Dissertação apresentada como requisito parcial à obtenção do grau de Mestre em Tecnologia de Alimentos, Programa de Pós-Graduação em Tecnologia de Alimentos, Setor de Tecnologia, Universidade Federal do Paraná.

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Nina Waszczynskyj

CURITIBA

2006

Longo, Giovana

Influência da adição de lactase na produção de iogurtes / Giovana Longo. - Curitiba, 2006.

xviii, 89 f. : il., grafs., tabs.

Orientadora: Nina Waszczynskyj

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Paraná, Setor de Tecnologia, Programa de Pós-Graduação em Tecnologia de Alimentos.

Inclui Bibliografia.

1. Lactose. 2. Beta-galactosidade. 3. Lactase. 4. Iogurte.
5. Avaliação sensorial. I. Waszczynskyj, Nina. II. Título.
- III. Universidade Federal do Paraná.

CDD 547.7815

TERMO DE APROVAÇÃO

GIOVANA LONGO

INFLUÊNCIA DA ADIÇÃO DE LACTASE NA PRODUÇÃO DE IOGURTES

Dissertação aprovada como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre no Programa de Pós-Graduação em Tecnologia de Alimentos, Setor de Tecnologia, Universidade Federal do Paraná, pela seguinte banca examinadora:

Orientadora:

Prof.^a Dr.^a Nina Waszczynskyj
Setor de Tecnologia, UFPR

Prof.^a Dr.^a Cláudia Helena Degáspari
Universidade Tuiuti do Paraná

Prof. Dr. Renato João Sossela de Freitas
Setor de Tecnologia, UFPR

Curitiba, 24 de janeiro de 2006

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho a minha mãe Dilse, meu pai Oscar e minha irmã Eliana que me apoiaram e incentivaram para a realização de mais esta etapa da minha vida profissional.

AGRADECIMENTOS

Quero agradecer primeiramente a Deus, por seu amor infinito para comigo, por estar sempre ao meu lado, abrindo muitas portas e colocando pessoas boas no meu caminho, e por me dar coragem todos os dias para chegar até o final.

À minha mãe Dilse, ao meu pai Oscar e à minha irmã Eliana, minha família querida, pelo incentivo durante todo esse período e pela sua paciência nos momentos mais difíceis.

Agradeço também à Universidade Federal do Paraná, que, por meio do Programa de Pós-Graduação em Tecnologia de Alimentos, me acolheu para que este trabalho fosse realizado.

À Professora Doutora Nina Waszczynskyj, por ter me acolhido como orientada, pelo voto de confiança, pela valiosa orientação, acompanhamento e revisão do estudo durante a realização deste trabalho.

Aos Professores Doutora Maria Lúcia Masson, Doutor Renato João Sossela de Freitas e Doutora Sônia Maria Chaves Haracemiv, pelos ensinamentos.

Aos secretários do Programa de Pós-Graduação em Tecnologia de Alimentos, Luciana Corrêa Marques e Paulo Roberto Krainski, pela competência no atendimento às minhas necessidades, pela convivência e amizade.

Às colegas de mestrado e queridas amigas, Érica Cristina Ramirez Baggio, Katielle Rosalva Vonic Córdoba, Nelisa Sita Pires Picoletto Martim, Thaís Martins Marcheze T. Bastos Gama, Vanessa Haddad Kalluf e Jocilene de Miranda Marques, pelo incentivo, apoio, carinho, força, colaboração e amizade.

À colega Dayane Karina Lorenzetti, pela amizade e pelo desejo de me ajudar, colocando à disposição o laboratório da Frimesa.

Ao Centro de Pesquisa e Processamento de Alimentos – CEPPA, pela realização das análises de lactose por HPLC, em especial à Cristina Mara Guolo Winter, pela disponibilidade.

Ao Laboratório Central do Estado - LACEN, em especial à Maria Emília Alcântara Kluppel, Leonir Bittencourt Eizendeher e Érica Cristina Ramirez Baggio, pela disponibilidade e incentivo na realização das análises de crioscopia do leite.

À equipe de julgadores, que pacientemente se dispuseram a realizar as análises sensoriais.

Aos Professores Doutora Cláudia Helena Degáspari, Doutor Renato João Sossela de Freitas e Doutora Nina Waszczynskyj, que participaram das bancas do exame de qualificação e da defesa trazendo contribuições valiosas para a melhoria deste trabalho.

À CAPES, pelo auxílio financeiro, possibilitando a dedicação ao curso.

À empresa Chr. Hansen, pelo fornecimento das culturas lácticas e às empresas Novozymes e Prozyn, pelo fornecimento de amostras de enzimas.

Enfim, agradeço a todas as pessoas que se dispuseram a me ajudar, contribuíram para a realização deste trabalho e torceram pela minha vitória!

**O mais bonito de um sonho não é realizá-lo,
mas sim ter a coragem de sonhá-lo.**

(Autor Desconhecido)

SUMÁRIO

ÍNDICE DE APÊNDICES	x
ÍNDICE DE ANEXOS	xi
LISTA DE FIGURAS	xii
LISTA DE TABELAS	xiv
LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS	xv
RESUMO	xvii
ABSTRACT	xviii
1. INTRODUÇÃO	1
1.1 – OBJETIVOS	2
1.1.1 – Objetivo Geral	2
1.1.2 – Objetivos Específicos	2
2. REVISÃO DA LITERATURA	4
2.1 – LEITE	4
2.2 – LACTOSE	7
2.2.1 – Importância da Lactose na Fermentação	9
2.2.2 – Hidrólise da Lactose	10
2.2.3 – Intolerância à Lactose	13
2.2.3.1 – Predominância da intolerância à lactose	15
2.3 – LACTASE	16
2.3.1 – Influência da Temperatura e do pH na Atividade da Lactase	17
2.3.2 – Aplicações da Lactase	19
2.4 – IOGURTE	21
2.4.1 – Processo Geral de Fabricação	22

2.5 – AVALIAÇÃO SENSORIAL	27
3. MATERIAL E MÉTODOS	29
3.1 – MATERIAL	29
3.1.1 – Matéria-Prima	29
3.1.2 – Cultura Láctica	29
3.1.3 – Enzima Lactase	30
3.2 – MÉTODOS	30
3.2.1 – Construção da Curva Padrão	30
3.2.2 – Preparo da Cultura Láctica	30
3.2.3 – Processo de Fabricação de Iogurte	31
3.2.3.1 – Tratamento térmico	31
3.2.4 – Análises Físico-Químicas	34
3.2.4.1 – Matéria-prima	34
3.2.4.2 – Iogurtes	34
3.2.5 – Avaliação Sensorial	35
3.2.5.1 – Seleção de julgadores	35
3.2.5.2 – Análise descritiva quantitativa	36
3.2.5.3 – Teste de preferência	40
3.2.6 – Análises Estatísticas	41
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	42
4.1 – CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS DA MATÉRIA-PRIMA	42
4.2 – REDUÇÃO DO TEOR DE LACTOSE NA PRODUÇÃO DE IOGURTE NATURAL	43
4.3 – CONSTRUÇÃO DA CURVA PADRÃO	45
4.4 – INFLUÊNCIA DA ADIÇÃO DE LACTASE NA PRODUÇÃO DE IOGURTES	47
4.5 – CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS DOS PRODUTOS OBTIDOS	48
4.6 – AVALIAÇÃO SENSORIAL	51
4.6.1 – Análise Descritiva Quantitativa	51
4.6.2 – Teste de Preferência	54

5. CONCLUSÕES	58
6. SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS	60
REFERÊNCIAS	61
APÊNDICES	71
ANEXOS	77

ÍNDICE DE APÊNDICES

APÊNDICE 1 – PORCENTAGEM DE HIDRÓLISE DA LACTOSE EM LEITE PASTEURIZADO, NOS INTERVALOS DE TEMPO DE 1 HORA, EM FUNÇÃO DE DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE ENZIMA LACTASE	71
APÊNDICE 2 – PORCENTAGEM DE HIDRÓLISE DA LACTOSE EM LEITE PASTEURIZADO, PARA DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE LACTASE, EM FUNÇÃO DO TEMPO	72
APÊNDICE 3 – CURVAS DE ACIDIFICAÇÃO DOS TRÊS PROCESSAMENTOS DE PRODUÇÃO DOS IOGURTES: (a) IOGURTE L1; (b) IOGURTE L2; (c) IOGURTE L3; (d) IOGURTE LC	73

ÍNDICE DE ANEXOS

ANEXO 1 – INFORMAÇÕES TÉCNICAS DA CULTURA LÁCTICA	
FD-DVS YF-FL811 – Yo-Flex , CHR. HANSEN	77
ANEXO 2 – INFORMAÇÕES TÉCNICAS DA ENZIMA LACTASE,	
PROZYN [®]	80
ANEXO 3 – CERTIFICADOS DAS ANÁLISES DE DETERMINAÇÃO DA	
LACTOSE , CEPPA	85

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 2.1 – FÓRMULA QUÍMICA DA LACTOSE	8
FIGURA 2.2 – REAÇÃO GLOBAL DE FERMENTAÇÃO LÁCTICA DA LACTOSE	10
FIGURA 2.3 – HIDRÓLISE DA LACTOSE PELO MÉTODO QUÍMICO	11
FIGURA 2.4 – HIDRÓLISE DA LACTOSE PELO MÉTODO ENZIMÁTICO	12
FIGURA 2.5 – EFEITO DO pH NA VELOCIDADE DE UMA REAÇÃO ENZIMÁTICA	18
FIGURA 2.6 – DIAGRAMA GERAL DE PRODUÇÃO DE IOGURTE	23
FIGURA 3.1 – DIAGRAMA GERAL DO PROCESSAMENTO DE IOGURTE NATURAL	33
FIGURA 3.2 – MODELO DA FICHA UTILIZADA NO TESTE TRIANGULAR PARA A SELEÇÃO DA EQUIPE DE JULGADORES	36
FIGURA 3.3 – MODELO DA FICHA UTILIZADA NA ANÁLISE DESCRITIVA QUANTITATIVA	39
FIGURA 3.4 – MODELO DA FICHA UTILIZADA NO TESTE DE PREFERÊNCIA	40
FIGURA 4.1 – TEOR DE LACTOSE NO LEITE E NO IOGURTE NATURAL PRODUZIDO	43
FIGURA 4.2 – PORCENTAGEM DE HIDRÓLISE DA LACTOSE EM LEITE PASTEURIZADO, APÓS 4 HORAS, EM FUNÇÃO DE DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE ENZIMA LACTASE	45

FIGURA 4.3 – PORCENTAGEM DE HIDRÓLISE DA LACTOSE EM LEITE PASTEURIZADO, UTILIZANDO-SE 0,8 g/L DE LACTASE, EM FUNÇÃO DO TEMPO	46
FIGURA 4.4 – PORCENTAGEM DE QUEDA NO pH E AUMENTO NA ACIDEZ DOS IOGURTES EM 12 DIAS DE ESTOCAGEM	50
FIGURA 4.5 – COMPARAÇÃO DOS ATRIBUTOS SENSORIAIS DOS IOGURTES COM BAIXO TEOR DE LACTOSE E COM TEOR DE LACTOSE NORMAL	52
FIGURA 4.6 – RELAÇÃO ENTRE OS ATRIBUTOS ACIDEZ E SABOR DOCE DOS IOGURTES	54
FIGURA 4.7 – HISTOGRAMA DA FREQUÊNCIA DAS NOTAS DO TESTE DE PREFERÊNCIA	56

LISTA DE TABELAS

TABELA 2.1 – PRODUÇÃO DE LEITE E DERIVADOS NO BRASIL (EM MILHÕES DE LITROS OU QUILOS)	6
TABELA 2.2 – TRATAMENTO TÉRMICO DO LEITE PARA PRODUÇÃO DE IOGURTE	26
TABELA 3.1 – ATRIBUTOS SENSORIAIS MAIS UTILIZADOS PARA AS AMOSTRAS DE IOGURTES	37
TABELA 3.2 – TERMOS DESCRITIVOS, DEFINIÇÕES E MATERIAIS DE REFERÊNCIA UTILIZADOS NO TESTE DE ADQ	37
TABELA 4.1 – CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS DA MATÉRIA-PRIMA	42
TABELA 4.2 – VALORES MÉDIOS DE pH E ACIDEZ DO PROCESSO DE FERMENTAÇÃO DOS IOGURTES OBTIDOS	47
TABELA 4.3 – TEMPO MÉDIO DE FERMENTAÇÃO DOS IOGURTES OBTIDOS	48
TABELA 4.4 – CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS DOS IOGURTES OBTIDOS	49
TABELA 4.5 – MÉDIAS OBTIDAS NA AVALIAÇÃO SENSORIAL DA CONSISTÊNCIA, ACIDEZ E SABOR DOCE DOS IOGURTES	51
TABELA 4.6 – MÉDIAS OBTIDAS NO TESTE DE PREFERÊNCIA DA PERCEPÇÃO GLOBAL DAS CARACTERÍSTICAS DOS IOGURTES	55
TABELA 4.7 – PORCENTAGEM DE PREFERÊNCIA DOS PRODUTOS	57

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

a.C.	Antes de Cristo
ADQ	Análise Descritiva Quantitativa
ANOVA	Análise de Variância
C	Carbono
cm	Centímetro
D	dextrógiro
EC	Enzyme Commission
g	Gramas
H	Hidrogênio
h	Hora
HCl	Ácido Clorídrico
HPLC	<i>High Pressure Liquid Chromatography</i>
L	Litro
mL	Mililitro
mol	Molaridade
N	Normalidade (Solução Normal)
nº	Número
O	Oxigênio
°C	Graus Centígrados
°D	Graus <i>Dornic</i>
p	Probabilidade
R ²	Coeficiente de Determinação
RDC	Resolução de Diretoria Colegiada
UHT	<i>Ultra High Temperature</i>

%	Porcentagem
β	Beta
ηm	Nanômetro

RESUMO

O mercado dos produtos com baixo teor de lactose ainda é pouco explorado no Brasil, porém 58 milhões de pessoas sofrem de má absorção ou intolerância à lactose. O objetivo deste trabalho foi estudar a influência da adição da enzima lactase no processamento, na redução do teor de lactose e nas características sensoriais dos iogurtes elaborados. Inicialmente, a curva padrão de hidrólise da lactose foi construída para determinar a concentração de enzima lactase necessária. Foram avaliados três métodos para a produção de iogurte, sendo, no primeiro, realizada a hidrólise do leite a 7°C por 15 horas, com posterior fermentação; no segundo, a hidrólise do leite a 40°C por 4 horas, com posterior fermentação; e no terceiro, simultânea hidrólise e fermentação a 40°C. A avaliação sensorial foi realizada por meio do teste de Análise Descritiva Quantitativa e do teste de Preferência. A concentração de 0,8g de enzima por litro de leite foi a escolhida para o estudo da influência da adição de lactase na produção dos iogurtes. Esta adição não influenciou o teor de acidez no final da fermentação, mas afetou significativamente o tempo de fermentação, que aumentou em aproximadamente 15%. Os iogurtes com baixo teor de lactose apresentaram queda de pH e aumento de acidez em doze dias de estocagem significativamente inferiores ao do iogurte com teor de lactose normal. Os teores de lactose dos iogurtes com adição de lactase foram considerados baixos, dentro dos padrões regulamentados pela legislação de alimentos para fins especiais. Os iogurtes com baixo teor de lactose apresentaram consistência semelhante ao do iogurte com teor de lactose normal, baixa acidez e elevado sabor doce. Os julgadores demonstraram preferência pelos iogurtes com baixo teor de lactose (89,66%) em relação ao iogurte com teor de lactose normal, sendo que os iogurtes obtidos pelo segundo e terceiro métodos receberam maior porcentagem de notas entre “6 – gostei ligeiramente” e “8 – gostei muito”. Considerando os resultados obtidos neste estudo, é possível concluir que a adição de lactase influenciou positivamente a produção de iogurtes, sendo que a simultânea hidrólise e fermentação mostraram ser o método mais adequado, por apresentar viabilidade econômica, além de proporcionar um produto com baixo teor de lactose, com características físico-químicas e sensoriais de boa aceitabilidade.

PALAVRAS-CHAVE: lactose, baixo teor de lactose, intolerância à lactose, lactase, iogurte, análise sensorial.

ABSTRACT

The market of products with low lactose content is not much explored in Brazil, but 58 million people suffer from malabsorption or lactose intolerance. The aim of this work was about studying the influence of adding the lactase enzyme in the processing, reducement of the lactose content and the sensory characteristics of the developed yogurts. First of all, the standard curve of lactose hydrolyze was built to determine the necessary concentration of lactase enzyme. Three methods were assessed to produce the yogurt, in the first, the milk hydrolyze was done by 7°C for 15 hours, with fermentation after it; in the second method, the milk hydrolyze by 40°C for 4 hours, with subsequent fermentation; and in the third one, both of them, the hydrolyze and the fermentation happen simultaneously by 40°C. The sensory assessment was done by the Descriptive Quantitative Analysis and the Preference Test. The concentration of 0,8g of enzyme in each liter of milk was chosen to study the influence of adding the lactase in yogurt production. The lactase adding did not influence the acidity content at the end of the fermentation, but affected meanly the fermentation time, which increased in approximately 15%. The yogurts with low lactose content showed a drop of the pH and acidity increase in twelve days of the stock much lower than the yogurt with the normal lactose content. The lactose contents of yogurts with addition of lactase were considered low, and in according to the standards regulated by food legislation to special aims. The yogurts with low lactose content showed consistency similar to the normal lactose content, low acidity and high sweet taste. The assessors showed preference for the low lactose content (89,66%) in comparison with the normal lactose content, so the yogurts obtained by the second and third methods got higher percentage of grades between "6 – I liked it a little bit" and "8 – I liked it a lot". Considering the results gotten in this study, it is possible to conclude that the lactase addition influenced positively the production of yogurts, so that the simultaneous hydrolyze and fermentation showed to be the more appropriate method, in order to present economical viability, besides to offer a product with low lactose content, with physical-chemical and sensory characteristics with good acceptability.

KEY WORDS: lactose, low lactose content, lactose intolerance, lactase, yogurt, sensory evaluation.

1. INTRODUÇÃO

O iogurte é um produto bastante consumido pela população brasileira, especialmente pela faixa etária infantil. Porém, milhões de pessoas não podem consumir leite nem seus produtos derivados, sem sofrer alguns dos seguintes sintomas: gases no intestino grosso, inchaço, dores abdominais, diarreia ou náusea. Estes problemas podem ocorrer poucos minutos após a ingestão do alimento contendo lactose ou, até mesmo, horas depois, e podem se manifestar em intensidades que variam de pessoa para pessoa (LACAZ-RUIZ, 2001).

A intolerância à lactose é a incapacidade de digerir lactose, principal carboidrato do leite, resultado da deficiência ou ausência da enzima intestinal chamada β -galactosidase ou, simplesmente, lactase. Esta enzima possibilita a quebra da molécula deste carboidrato em monossacarídeos (galactose e glicose), facilitando a sua absorção pelo intestino (SUENAGA *et al.*, 2003).

Mais de 50% da população mundial apresenta condição de intolerância à lactose, sendo esta uma das mais comuns desordens genéticas (DURING *et al.*, 1998). No Brasil, 58 milhões de pessoas apresentam alguma dificuldade em digerir a lactose pela deficiência da enzima lactase no intestino (BATAVO, 2004).

Hoje, muitos países possuem uma gama de produtos com baixo teor de lactose, porém no Brasil, este mercado ainda tem sido pouco explorado. Com exceção do leite UHT, o mercado brasileiro ainda não dispõe de derivados lácteos com baixo teor de lactose voltados a essa clientela (ABLV, 2005). Recentemente, a indústria de laticínios tem dado especial atenção ao desenvolvimento de produtos contendo baixo teor de lactose, visando atender aos consumidores que apresentam má absorção ou intolerância à lactose (SUENAGA *et al.*, 2003).

PEREIRA (2002) estudou o efeito da redução do teor de lactose do leite na produção de iogurte. Para reduzir o teor de lactose não foi utilizada a adição de lactase, mas sim o processo de ultrafiltração para remoção de parte da lactose. Os resultados obtidos demonstraram o grande potencial para a produção de iogurte com teor de lactose reduzido, entretanto, foi sugerido que estudos complementares fossem conduzidos visando melhorar as características sensoriais destes produtos.

1.1 – OBJETIVOS

A finalidade do trabalho foi estudar a influência da adição da lactase na produção de um derivado lácteo com baixo teor de lactose, contribuindo assim com conhecimento científico, para que as indústrias de laticínios possam atender e proporcionar melhor qualidade de vida para os consumidores de produtos lácteos que possuem intolerância à lactose disponibilizando no mercado um produto diferenciado que atenda às suas necessidades.

1.1.1 – Objetivo Geral

Quantificar o efeito da redução do teor de lactose do leite, pelo uso da enzima lactase, na produção de iogurte.

1.1.2 – Objetivos Específicos

- Determinar a porcentagem de redução do teor de lactose ocorrida durante a produção de iogurte natural;
- Determinar a atividade da enzima lactase pela construção da curva padrão de hidrólise da lactose do leite;

- Avaliar o efeito da redução enzimática do teor de lactose do leite na acidificação do iogurte;
- Comparar as características sensoriais do iogurte com baixo teor de lactose com o iogurte com teor de lactose normal.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 – LEITE

Entre os alimentos, o leite é o que possui maior valor para o ser humano (SOROA, 1980). Este é um produto importante para todos os povos por ser de alto valor nutritivo, fornecendo nutrientes em quantidades consideráveis (VALSECHI, 2001).

O leite, obtido em circunstâncias naturais, é uma emulsão de cor branca, ligeiramente amarelada, de odor suave e gosto ligeiramente adocicado. É um produto secretado pelas glândulas mamárias e é um alimento indispensável aos mamíferos nos primeiros meses de vida, enquanto não podem digerir outras substâncias necessárias à sua subsistência (BEHMER, 1979).

A legislação brasileira denomina leite, sem outra especificação, como sendo o produto oriundo da ordenha completa e ininterrupta em condições de higiene, de vacas sadias, bem alimentadas e descansadas (BRASIL, 2002).

As principais constantes físico-químicas utilizadas para determinar a qualidade do leite são: o pH (a 20°C) que varia de 6,5 a 6,7; a acidez titulável de 15°D a 18°D; a densidade variando de 1,028g/mL a 1,036g/mL; e a temperatura de congelamento que pode variar de -0,510°C a -0,550°C (GOURSAUD, 1991).

O leite de vaca possui em média 3,5% de proteínas, 3,8% de gordura, 5,0% de lactose, 0,7% de minerais (cinzas) e 87% de água. Estes valores médios podem apresentar desvios, uma vez que a variação da composição do leite é muito grande. De todos os componentes do leite, a fração que mais varia é a formada pela gordura. Os sólidos não-gordurosos, que compreendem todos os elementos do leite menos a água e a gordura, representam em média 8,9% do total no leite. Os fatores

mais importantes que influenciam a composição do leite são: a espécie animal, a raça, a fase de lactação, os intervalos entre as ordenhas, a influência da estação do ano e a alimentação do animal (BEHMER, 1979; SPREER, 1991; RAPACCI, 2000).

A água constitui, em volume, o principal componente do leite, influenciando sensivelmente na densidade. Sua principal função é atuar como solvente dos demais componentes. A maior parte encontra-se como água livre, embora haja água ligada às proteínas, à lactose e aos minerais (BEHMER, 1979; SPREER, 1991; SILVA *et al.*, 1997).

A gordura é um dos componentes mais ricos do leite e está presente na forma de glóbulos de diversos tamanhos que se encontram em suspensão na fase aquosa, formando uma emulsão relativamente estável. Os glóbulos são compostos por triglicerídios e cada um deles é envolvido por uma camada formada por um componente da gordura denominado fosfolípido. O leite de vaca possui aproximadamente 437 moléculas de ácidos graxos e entre os principais podem ser citados o ácido palmítico (C_{16}) e o ácido oléico ($C_{18:1}$). A gordura é o constituinte que mais sofre variações em razão da alimentação, raça, estação do ano e período de lactação (BEHMER, 1979; SPREER, 1991; ALBUQUERQUE, 1997; SILVA *et al.*, 1997).

O leite apresenta dois grupos de proteínas: as proteínas do soro e a caseína. As proteínas do soro são formadas de lactoglobulinas e lactoalbuminas, que são solúveis na água. A caseína forma uma dispersão coloidal, apresentando-se em maior proporção (em média 3%) no leite. Está presente na forma de micelas, que são agrupamentos de várias moléculas de caseína junto com cálcio, fósforo e outros sais (BEHMER, 1979; SPREER, 1991; LONGO *et al.*, 2001).

A lactose é o açúcar característico do leite, sendo o constituinte predominante e menos variável da matéria seca do leite. É quantitativamente o mais importante dos sólidos não graxos. Industrialmente, a fermentação da lactose por ação dos microrganismos que a transforma em ácido láctico ocupa lugar de grande destaque, sendo utilizada para obtenção de vários derivados lácteos como iogurte, leite

acidófilo, queijos, requeijões, ácido láctico e outros (GOURSAUD, 1985; ALBUQUERQUE, 1997).

As substâncias minerais e as vitaminas são normalmente encontradas em pequenas quantidades no leite. Entre os minerais presentes, podem ser citados: cálcio, fósforo, cloro, sódio, potássio e magnésio em teores consideráveis, e ferro, alumínio, bromo, zinco e manganês em baixos teores. Quanto às vitaminas, o leite constitui uma larga fonte para o fornecimento das vitaminas necessárias para o organismo. Entre as que se destacam estão presentes as vitaminas A, D, E e K (associadas aos glóbulos de gordura), a vitamina C e aquelas pertencentes ao complexo B: tiamina (B1), riboflavina (B2) e niacina (B3) (SPREER, 1991; ALBUQUERQUE, 1997; SILVA *et al.*, 1997).

No Brasil, a indústria de laticínios é bastante expressiva, apresentando elevado nível de desenvolvimento tecnológico, o que pode ser demonstrado pela grande variedade de produtos derivados existentes no mercado. Um notável aumento da produção de leite e derivados lácteos vem ocorrendo como resultado da crescente demanda por produtos de maior praticidade, sobretudo em grandes cidades, conforme se observa na Tabela 2.1 (OLIVEIRA, 2003).

TABELA 2.1 – PRODUÇÃO DE LEITE E DERIVADOS NO BRASIL (EM MILHÕES DE LITROS OU QUILOS)

PRODUTO	1990	1998	2002
Leite cru	13.885	19.247	20.400
Leite pasteurizado	4.666	2.745	-
Leite esterilizado (UHT)	168	3.100	-
Leite em pó	231	303	-
Iogurte	206	470	500
Queijo	198	330	-
Manteiga	56	74	-
Requeijão	18	36	-

FONTE: ANUÁRIO MILKBIZZ, 1999; EMBRAPA, 2005

Nos últimos 25 anos, a produção brasileira de leite aumentou 119%, passando de 10,2 bilhões de litros em 1979 para 22,3 bilhões em 2003. Para o ano de 2005, a expectativa é de que se confirme uma produção de 22,9 bilhões de litros de leite (EMBRAPA, 2005).

A produção de iogurte e outros tipos de leites fermentados é um mercado que cresce a taxas substancialmente elevadas mundialmente, com destaque para o mercado brasileiro que assiste a uma explosão de consumo, notadamente após o advento do plano real. O aumento do consumo traz duas conseqüências: em um primeiro momento aumenta-se o consumo dos produtos existentes, como iogurtes tradicionais, iogurtes com frutas e iogurtes líquidos; na seqüência, o mercado tende a segmentar-se no sentido de manter a curva de consumo ascendente, e os consumidores desejam cada vez mais produtos diversificados (OLIVEIRA, 1997).

A fermentação do leite resulta em vários tipos de produtos, todos com vida de prateleira mais extensa do que o leite fresco. Além de aumentar a vida de prateleira do leite *in natura*, o processo fermentativo em si torna o produto mais seguro e nutritivo. Os principais tipos de leites fermentados são iogurte, kefir e leite acidófilo, sendo o iogurte o mais popular (RAPACCI, 1999).

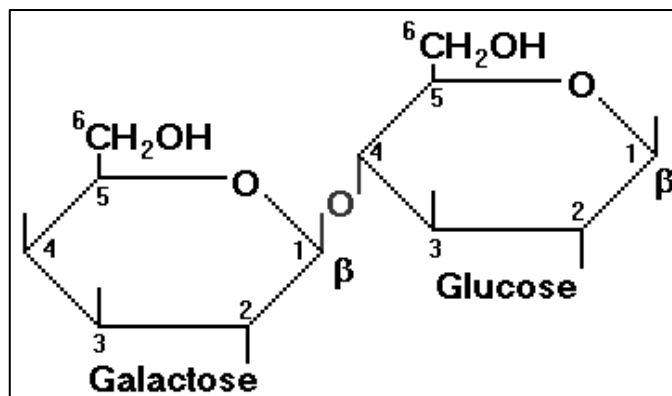
2.2 – LACTOSE

A lactose (4-O- β -D-galactopiranosil-D-glicose) (LACTOSE, 1996) é um dissacarídeo sintetizado nas células alveolares da glândula mamária a partir de glicose sanguínea produzida essencialmente no fígado a partir do ácido propiônico proveniente da fermentação ruminal (uma parte limitada de glicose também tem origem na hidrólise dos açúcares solúveis ingeridos) (GOURSAUD, 1985).

Do ponto de vista físico-químico, a lactose está presente no leite, em média 5%, no estado molecular em solução verdadeira, com partículas de diâmetros inferiores a 1 μ m (GOURSAUD, 1985; AMIOT, 1991; MANAN; KARIM; KIT, 1999). É formada pela junção de dois monossacarídeos, uma molécula de glicose e uma

molécula de galactose. Na Figura 2.1 está representada a fórmula química da lactose.

FIGURA 2.1 – FÓRMULA QUÍMICA DA LACTOSE



FONTE: MACEDO, 2003

A lactose tem o mesmo peso molecular da sacarose da qual difere, contudo, na configuração molecular, no poder edulcorante, na solubilidade e no poder redutor. A lactose é cerca de dez vezes menos solúvel que a sacarose (Valsechi, 2001). Esta característica pode causar cristalização e, conseqüentemente, problemas tecnológicos durante o processamento de alguns produtos na indústria de laticínios. A lactose também apresenta um baixo poder adoçante. Isto faz da hidrólise da lactose uma possibilidade atrativa para a obtenção de um xarope mais doce contendo glicose e galactose (Santos; Ladero; García-Ochoa, 1998). A título de comparação do poder de doçura relativa, a frutose tem o índice 130, a sacarose 100 (padrão), a glicose 75, a galactose 32 e a lactose apenas 17 (Zadow, 1984; Gouraud, 1985; Bobbio; Bobbio, 1992b).

Segundo Kirkpatrick e Fenwick (1987), por possuir poder adoçante inferior ao da sacarose, a lactose pode ser utilizada na formulação de alimentos sem ofuscar o sabor natural de outros componentes. Quando usada em produtos assados, a lactose promove a reação de Maillard, o que melhora a coloração da

crosta. Em altas temperaturas, a lactose carameliza e contribui para o sabor e cor. Nutricionalmente, a lactose promove a absorção de cálcio e fósforo, o que é especialmente útil em formulações infantis.

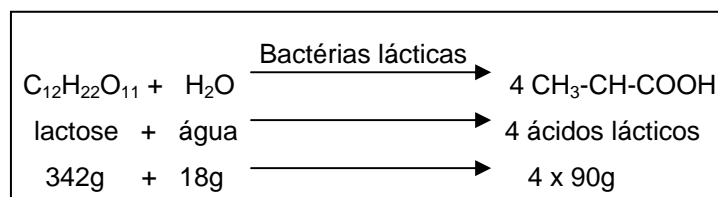
A lactose é um dissacarídeo redutor (BOBBIO; BOBBIO, 1992a). O que confere as propriedades redutoras é o resíduo glicose da lactose. Daqui resulta uma aplicação analítica da dosagem da lactose em solução por redução do licor cúprico alcalino de Fehling (GOURSAUD, 1985).

2.2.1 – Importância da Lactose na Fermentação

A lactose é o único açúcar fermentescível em quantidade importante no leite. É utilizável por microrganismos adaptados a metabolizá-lo com produção final de ácido láctico. As bactérias lácticas (*Lactobacillos* e *Streptococcus*) possuem uma aptidão particular para a produção de ácido láctico a partir de lactose. O resultado é um abaixamento do pH do leite, indispensável para se obter quer a coagulação na fabricação de leites fermentados ou de queijos frescos, quer a prévia acidificação antes da coagulação enzimática para o fabrico dos queijos maturados. No entanto, as bactérias lácticas produzem relativamente pouco ácido láctico em relação à quantidade de lactose disponível no leite (4% a 5%): os *Streptococcus* mesófilos produzem 0,42%; em contrapartida, os *Lactobacillus* termófilos são mais acidificantes, sendo o máximo atingido pelo *L. helveticus* com 2% a 2,5% de lactatos (GOURSAUD, 1985).

Geralmente a produção de ácido láctico é detida em consequência de uma auto-inibição dos microrgarnismos pela acidez adquirida. Por exemplo, em uma fermentação mista, formada por *Streptococcus* e *Lactobacillus*, existe inibição ao se atingir pH 4,3 (GOURSAUD, 1985; FERREIRA, 1996).

A reação global de fermentação láctica da lactose pode ser expressa como mostra a Figura 2.2.

FIGURA 2.2 – REAÇÃO GLOBAL DE FERMENTAÇÃO LÁCTICA DA LACTOSE

FONTE: GOURSAUD, 1985

Pela ação das bactérias lácticas, uma molécula de lactose dá origem a quatro moléculas de ácido láctico. Recentemente foram postos à disposição os conhecimentos dos mecanismos inerentes ao transporte da lactose, através da membrana celular, nas bactérias lácticas usadas como agentes de fermentação para produtos lácticos fermentados. A lactose não é usada diretamente no processo fermentativo pelas bactérias lácticas, pois é transformada primeiramente em glicose e galactose pela enzima lactase. Uma vez que a lactase é uma endoenzima, a lactose precisa entrar na célula bacteriana para ser degradada posteriormente. As bactérias homofermentativas produzem essencialmente ácido láctico, enquanto que as heterofermentativas produzem outros tipos de compostos, tais como ácidos acético, propiônico e butírico e gás carbônico (VALSECHI, 2001). É interessante notar que, num plano biológico, o ácido láctico de origem microbiana é assimilável pelo ser humano, e que é da mesma natureza daquele que está presente nos tecidos dos mamíferos (GOURSAUD, 1985).

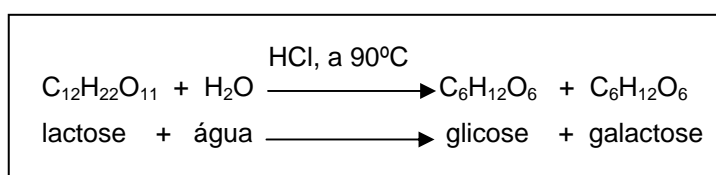
2.2.2 – Hidrólise da Lactose

A hidrólise da lactose é um processo promissor para a indústria de alimentos porque possibilita o desenvolvimento de novos produtos sem lactose em suas composições. Esta operação oferece certas vantagens tecnológicas, na medida em que ela diminui os riscos de cristalização nos derivados lácteos e aumenta o poder adoçante (SCRIBAN, 1985). Existem dois métodos principais para a hidrólise da

lactose: o método químico e o método enzimático (LADERO; SANTOS; GARCÍA-OCHOA, 2000).

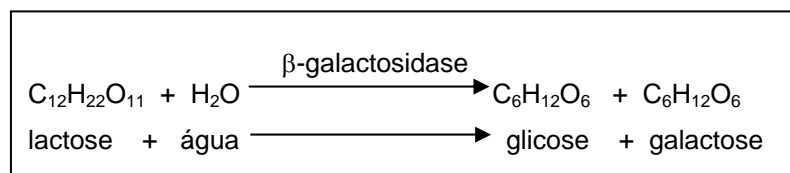
O método químico depende do uso de altas temperaturas, que podem variar de 90°C a 150°C, e alta acidez (pH de aproximadamente 1,5), controlada pela adição de ácidos fortes, como o ácido clorídrico ou o sulfúrico, em altas concentrações. Neste caso, ocorrem problemas tecnológicos, como a desnaturação das proteínas do leite e os produtos podem apresentar coloração e odor que impedem a sua utilização nos alimentos. Portanto não existem aplicações industriais conhecidas. Um exemplo pode ser dado, comparando-se a hidrólise da sacarose com a hidrólise da lactose. Enquanto uma solução de sacarose a 5% pode ser hidrolisada após 20 minutos a 75°C na presença de 1mL de ácido clorídrico concentrado, a mesma solução de lactose necessita de 10mL do mesmo ácido a 90°C para ser hidrolisada, sendo que esta reação pode durar 90 minutos (JELEN, 1983; GOURSAUD, 1985; VEISSEYRE, 1988; SANTOS; LADERO; GARCÍA-OCHOA, 1998). A Figura 2.3 apresenta a reação de hidrólise da lactose pelo método químico.

FIGURA 2.3 – HIDRÓLISE DA LACTOSE PELO MÉTODO QUÍMICO



FONTE: GOURSAUD, 1985

A hidrólise enzimática pode ser aplicada no leite ou no soro sem tratamento prévio e os produtos obtidos preservam as propriedades nutricionais da matéria-prima, melhorando sua doçura. A hidrólise pelo método enzimático é catalisada pela enzima lactase (β -galactosidase) (Figura 2.4) (GOURSAUD, 1985; SANTOS; LADERO; GARCÍA-OCHOA, 1998; LADERO; SANTOS; GARCÍA-OCHOA, 2000; OBÓN *et al.*, 2000).

FIGURA 2.4 – HIDRÓLISE DA LACTOSE PELO MÉTODO ENZIMÁTICO

FONTE: GOURSAUD, 1985

A vantagem da hidrólise enzimática reside no fato de que a reação se processa a temperatura relativamente baixa, numa faixa que pode variar de 4°C a 40°C, sendo a temperatura ótima de 30°C a 40°C, permitindo uma maior economia energética, além de não se formarem produtos colaterais (SANTOS; LADERO; GARCÍA-OCHOA, 1998; LADERO; SANTOS; GARCÍA-OCHOA, 2000; VITOLO, 2001).

A hidrólise da lactose realizada com a lactase é um processo usado em escala industrial e atualmente conduz à formação de produtos de lactose hidrolisada: mais facilmente digeríveis, mesmo no caso de pessoas com intolerância à lactose; mais doces; e que previnem a cristalização da lactose na produção, por exemplo, de sorvetes, doces de leite ou produtos fermentados, como o iogurte (GOURSAUD, 1985; OBÓN *et al.*, 2000; ANDRADE; BRANDÃO; ALVIM, 2004).

A hidrólise da lactose pode também originar um xarope doce contendo glicose e galactose, que apresenta vantagens nutricionais em algumas aplicações. Xaropes de lactose hidrolisada a partir de permeados e soros podem ser usados em produtos de confeitaria e sorvetes (KIRKPRATRICK; FENWICK, 1987).

Segundo VITOLO (2001), a hidrólise enzimática da lactose do leite pode seguir dois caminhos: no primeiro, o leite cru passa pelo processo de esterilização (UHT – 141°C/5 segundos) e, depois do resfriamento, adiciona-se a lactase e o leite é colocado em embalagem asséptica. A hidrólise da lactose se dá no interior da embalagem. No segundo, o leite cru passa por uma pasteurização (72°C/15 segundos) e, após o resfriamento, a lactase é adicionada. A hidrólise se dá dentro

de tanques de armazenamento. Assim que termina a hidrólise da lactose, é realizado a esterilização e o envase asséptico (PROZYN, 2004). No caso de necessidade de controle do grau de hidrólise da lactose, PROZYN (2004) recomenda o uso da técnica de crioscopia.

Recentemente a aplicação de lactase para realizar a hidrólise enzimática da lactose em produtos lácteos tem recebido muita atenção. Em particular, estudos clínicos têm mostrado que as pessoas que sofrem de intolerância à lactose podem consumir produtos lácteos hidrolisados com uma redução considerável dos sintomas desagradáveis (BAKKEN; HILL; AMUNDSON, 1992; SHAH; FEDORAK; JELEN, 1992; FERRONATO *et al.*, 2004).

2.2.3 – Intolerância à Lactose

A lactose é utilizada pelos mamíferos, logo depois da sua hidrólise sob a ação da lactase que corta a ligação β 1-4. É no intestino delgado, ao nível do jejuno, que é segregada a lactase que desdobra a lactose em glicose e galactose, fazendo com que a absorção intestinal seja possível (DISTLER; JOURDIAN, 1973; GOURSAUD, 1985; FERREIRA, 1997).

As pessoas deficientes em lactase não têm essa capacidade e quando consomem leite, a lactose não é desdobrada no intestino delgado, não sendo absorvida. Desta forma, a pressão osmótica do intestino aumenta e uma quantidade considerável de água é retirada dos tecidos vizinhos. Então a lactose passa para o intestino grosso, onde é fermentada por grupos microbianos produtores de gases e água ou é hidrolisada por bactérias em ácidos orgânicos de cadeia curta. Os gases que não são absorvidos causam inchaço e os ácidos produzidos irritam a parede intestinal e aumentam a motilidade, que combinada com a água secretada no intestino resultam em diarreia. Estes sintomas e outros, como dores abdominais e vômitos, variam em intensidade de indivíduo para indivíduo. Por causa destes sintomas desagradáveis, as pessoas deficientes em lactase se privam do consumo

de leite e com isto de seus benefícios nutritivos (GOURSAUD, 1985; KOCIÁN, 1988; FERREIRA, 1997).

A deficiência de lactase conduz à má-digestão, seguida da má-absorção da lactose, e à conseqüente intolerância. Intolerância à lactose é um termo usado para descrever a incapacidade de digerir lactose devido a essa deficiência do sistema digestivo (KOCIÁN, 1988; MANAN; KARIM; KIT, 1999; TÉO, 2002).

Felizmente, a maioria dos intolerantes à lactose desenvolve o quadro com o passar do tempo e muitos deles convivem com a deficiência enzimática e só observam os sintomas depois de muitos anos. Por outro lado, fatores psicológicos devem ser considerados no que diz respeito à intolerância à lactose, já que se sabe que as funções cerebrais exercem forte influência sobre a percepção de sintomas (TÉO, 2002).

A intolerância à lactose pode ser classificada em três grupos, que representam o modo como se manifesta. A intolerância genética é aquela congênita, manifestada em recém-nascidos e é uma condição permanente. A forma congênita de deficiência de lactase é muito rara. A intolerância adquirida é aquela que se manifesta após uma inflamação ou algum dano permanente na mucosa intestinal. Geralmente se manifesta em adultos e é muito comum, afetando cerca de $\frac{3}{4}$ da população mundial. A intolerância transitória é, usualmente, condição temporária causada por dano à mucosa intestinal. Depois que o dano é reparado, a mucosa se regenera e passa a produzir lactase novamente, ainda que seja uma das últimas enzimas que volta a ser produzida (KOCIÁN, 1988; TÉO, 2002).

Segundo DURING *et al.* (1998), mais de 50% da população mundial apresenta condição de deficiência de lactase, sendo esta uma das mais comuns desordens genéticas. No entanto, a lactose age como um promotor na absorção e na retenção de cálcio no intestino e na absorção de magnésio e manganês (MANAN; KARIM; KIT, 1999). Também prolonga a ação da vitamina D, em caso de redução da radiação solar, e ajuda na prevenção do raquitismo e da osteomalácia (KOCIÁN, 1988). Segundo MORIWAKI e MATIOLI (2000), a redução ou eliminação

do leite e seus derivados da dieta de crianças intolerantes à lactose pode comprometer a absorção de proteína e riboflavina, além do cálcio. Portanto é recomendada a adição de cálcio nos produtos lácteos sem lactose ou com quantidade de lactose reduzida porque a absorção desse mineral no intestino é baixa quando não se tem a presença de lactose (KOCIÁN, 1988).

2.2.3.1 – Predominância da intolerância à lactose

Há aproximadamente 10.000 anos a.C., a maioria da população era caracterizada por uma alta atividade de lactase durante a amamentação, nos primeiros meses de vida. Quando crianças, esta atividade diminuía até que, na fase adulta, todos eram intolerantes à lactose. Quando o gado passou a ser domesticado, as pessoas começaram a utilizar o leite animal como a primeira possibilidade de substituição do leite materno para as crianças e, depois, para os adultos. Dessa forma ocorreram desvios genéticos, persistindo a atividade da lactase. Portanto, a tolerância à lactose e a possibilidade da utilização de leite se desenvolveu como uma mutação genética, em particular nas regiões do norte europeu (KOCIÁN, 1988).

Recentemente, todos os mamíferos terrestres têm um decréscimo da lactase depois de desmamar. Mundialmente, os humanos perdem de 90% a 95% dos níveis de lactase do nascimento até o início da infância, continuando o declínio ao passar dos anos. O recente mapeamento do genoma humano encontrou “o código genético” responsável pela inabilidade da maioria dos adultos para produzir lactase. Esta falha genética é encontrada em várias partes do mundo (TORRES, 2004).

Aproximadamente 70% dos descendentes de africanos, 95% dos asiáticos e 53% dos hispânicos são intolerantes à lactose, comparados com apenas 10% a 15% dos americanos brancos e descendentes de norte-europeus (SHAH; FEDORAK; JELEN, 1992; TORRES, 2004).

A intolerância à lactose não é comum em crianças brancas. No entanto, infecções por rotavírus podem ser importantes causadores de má-digestão de

lactose em crianças e, assim que a infecção é curada, a má-digestão desaparece (VESA; MARTEAU; KORPELA, 2000).

Um estudo realizado com chineses, tidos como intolerantes à lactose, mostrou que uma introdução gradual de leite pode ser aceitável e o leite é melhor tolerado quando consumido junto a uma refeição. Mesmo os intolerantes à lactose podem tolerar uma porção de leite em uma refeição sem apresentarem desconfortos gastrintestinais (TORRES, 2004).

Produtos lácteos fermentados e leite com baixo teor de lactose têm sido recomendados para pessoas com intolerância à lactose. Entre os produtos fermentados, o iogurte é o que apresenta melhor tolerância. Essa melhor tolerância tem sido atribuída à alta atividade da lactase presente nos microrganismos usados na produção do iogurte (normalmente *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* e *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus*) comparados com outras bactérias produtoras de ácido láctico (SHAH; FEDORAK; JELEN, 1992; SWAGERTY; WALLING; KLEIN, 2002).

2.3 – LACTASE

Lactase é o nome utilizado para a enzima β -galactosidase ou mais formalmente β -D-galactosidase galactohidrolase (CARMINATTI, 2001). Na classificação segundo o tipo de reação que as enzimas catalisam, a lactase é classificada como uma hidrolase.

Segundo SHUKLA¹, citado por CARMINATTI (2001), as possíveis fontes de obtenção de lactase são: plantas, como pêssigo, amêndoa e algumas espécies de rosas selvagens; organismos animais, como intestino, cérebro e tecido da pele; leveduras como *Kluyveromyces lactis*, *K. fragilis* e *Candida pseudotropicalis*; bactérias como *Escherichia coli*, *Lactobacillus bulgaricus*, *Bacillus sp* e

¹ SHUKLA, T. P. β -Galactosidase technology: a solution to the lactose problem. **Critical Reviews in Food Technology**, v. 1, p. 325-356. 1975.

Streptococcus lactis; e fungos, como *Aspergillus foetidus*, *A. niger*, *A. oryzae* e *A. phoenecis*.

A legislação brasileira especifica, por meio da Resolução RDC nº 348/2003, que a enzima lactase utilizada na indústria de alimentos deve ser de origem microbiana, proveniente da levedura *Kluyveromyces lactis* (BRASIL, 2003b). Esta levedura foi descrita pela primeira vez por Beijerinck em 1889 e é um microrganismo bem conhecido e usado na produção de certos tipos de iogurte. O Número Internacional da Enzima é EC 3.2.1.23 (GIST-BROCADES, 2004).

A lactase age sobre a lactose presente no leite, quebrando suas ligações e produzindo D-glicose e D-galactose, que são açúcares mais solúveis e de mais rápida absorção. Durante a reação uma molécula de água é usada. Na hidrólise da lactose, especial atenção deve ser dispensada para a influência da temperatura, do pH, do tempo de reação e da concentração da enzima, pois esses fatores determinam a velocidade da reação (EVANGELISTA, 1998; GIST-BROCADES, 2004; PROZYN, 2004).

2.3.1 – Influência da Temperatura e do pH na Atividade da Lactase

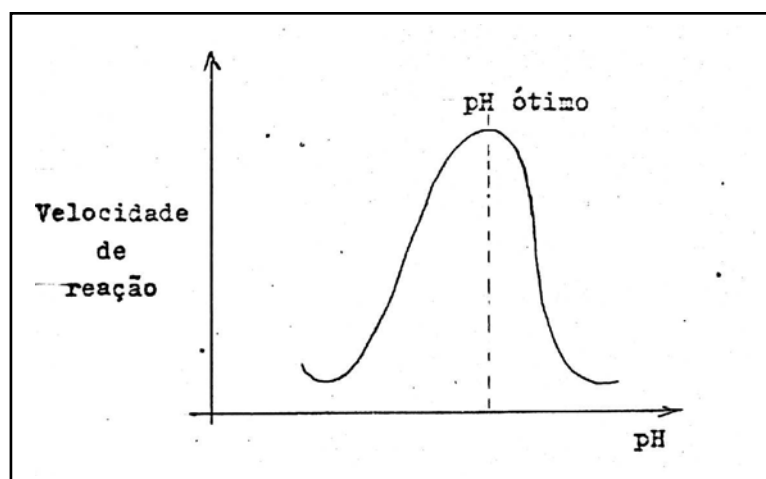
Existe uma zona de temperatura, às vezes estreita, para a qual a atividade enzimática é máxima. Em geral, a atividade das enzimas aumenta com o aumento da temperatura, até atingir uma atividade ótima, ocorrendo conseqüentemente um aumento na formação do complexo enzimático. No entanto, com o aumento contínuo da temperatura, poderá haver uma inativação gradativa da enzima até a inativação total causada pela desnaturação devido ao calor (RICHARD, 1985; BONNAS, 2003).

Para determinar a faixa de temperatura ótima da lactase, CARMINATTI (2001) realizou ensaios a várias temperaturas (30°C, 35°C, 40°C, 45°C e 50°C). O grau de hidrólise obteve seu máximo em aproximadamente 60 minutos, permanecendo constante durante o resto do ensaio. Na faixa de temperatura entre 30°C e 40°C ocorreram as melhores conversões da lactose em glicose e galactose,

obtendo-se valores próximos a 100% de hidrólise. Com o aumento da temperatura, a conversão da lactose reduziu sensivelmente. A 45°C a conversão máxima obtida foi de 70%, enquanto que para a temperatura de 50°C, apenas 35% da lactose hidrolisou.

Todas as enzimas são sensíveis às variações da concentração em H^+ do meio. Existe uma zona de pH para a qual a atividade enzimática é máxima. Para a maioria das enzimas, o pH ótimo se situa entre 4,5 e 8,0 (RICHARD, 1985; BONNAS, 2003). Se, em um gráfico, a velocidade enzimática for colocada em função do pH, para uma determinada concentração de enzimas, a curva se apresenta da forma como é mostrada na Figura 2.5.

FIGURA 2.5 – EFEITO DO pH NA VELOCIDADE DE UMA REAÇÃO ENZIMÁTICA



FONTE: RICHARD, 1985

Para verificar a influência do pH na atividade da lactase, CARMINATTI (2001) utilizou quatro diferentes valores de pH (4, 5, 6 e 7). A condição de temperatura foi a mesma para todos os ensaios (40°C). O grau de hidrólise foi praticamente igual quando a reação ocorreu em pH 6 e 7. A conversão máxima foi de 90%. O tempo necessário para alcançar a conversão máxima em pH 6 foi de aproximadamente 60 minutos, enquanto que para pH 7 foi de 90 minutos. No ensaio realizado em pH 4, o

grau de hidrólise pôde ser praticamente desconsiderado, enquanto que para pH 5 o valor máximo obtido foi de 1% de hidrólise.

2.3.2 – Aplicações da Lactase

O uso da lactase para hidrolisar a lactose em produtos lácteos pode ser uma boa alternativa para os consumidores que são intolerantes à lactose. Segundo MANAN, KARIM e KIT (1999), existe um crescimento considerável no interesse de se pesquisar usos potenciais da lactase na hidrólise da lactose em produtos lácteos.

A lactase é empregada para participar da elaboração de produtos lácteos como o doce de leite e o leite sem lactose ou com baixo teor de lactose. No caso do doce de leite, a lactase minimiza os problemas de arenosidade causada pela cristalização da lactose. A enzima pode atuar também na produção de cremes visando a não formação de cristais de lactose e hidrolisar a lactose do soro, para formar açúcares de maior poder adoçante e de maior solubilidade (EVANGELISTA, 1998; VITOLO, 2001; ANDRADE; BRANDÃO; ALVIM, 2004).

Geralmente a lactase pode ser adicionada em quantidade indicada pelo fornecedor. A temperatura ótima é de até 40°C, mas esta temperatura é ideal para proliferação de microrganismos patogênicos no leite. Portanto o tempo de reação não deve ultrapassar 4 horas (KOCIÁN, 1988; PROZYN, 2004).

VINHAL (2001) utilizou lactase proveniente de *Kluyveromyces fragilis* para reduzir o teor de lactose do leite utilizado para produção de doce de leite, com o objetivo de aumentar o seu tempo de armazenamento por meio da redução da arenosidade causada pela cristalização da lactose no processo de concentração. A enzima apresentou atividade ótima e boa estabilidade em pH entre 6,5 e 7,0, com uma temperatura ótima de 40°C. Para temperaturas superiores, a lactase apresentou baixa estabilidade térmica. O doce de leite elaborado com leite 20% hidrolisado não apresentou efeitos de arenosidade durante seis meses de estocagem.

ANDRADE, BRANDÃO e ALVIM (2004) utilizaram lactase para hidrolisar a lactose do doce de leite e do creme utilizado para produção de sorvete de doce de leite sem lactose. O doce de leite com lactose hidrolisada apresentou coloração mais escura, sabor mais adocicado e não apresentou cristalização da lactose. O sorvete produzido apresentou textura cremosa, livre do problema de cristalização da lactose, e boa aceitação.

Além dessas aplicações, a lactase pode ser utilizada em produtos lácteos fermentados, como o iogurte. Segundo GIST-BROCADES (2004), apesar das culturas lácticas *Streptococcus thermophilus* e *Lactobacillus bulgaricus* serem selecionadas por sua habilidade em fermentar a lactose, a hidrólise enzimática da lactose, no entanto, estimula o crescimento dessas culturas. Além disso, em iogurtes de frutas ou sobremesas que têm iogurtes como base, a lactose não contribui para o sabor doce. A hidrólise enzimática da lactose pode aumentar em até três vezes o sabor doce, contribuindo substancialmente para a doçura do produto, reduzindo a necessidade de adição de açúcar.

GIST-BROCADES (2004) sugere três métodos possíveis para a produção de iogurte, utilizando a lactase. No primeiro método procede-se com a pré-hidrólise do leite pasteurizado a baixas temperaturas (6°C a 10°C) por aproximadamente 15 horas. Logo após se dá o início do processo de tratamento térmico e a adição da cultura láctica para a fabricação do iogurte. No segundo método, a pré-hidrólise do leite é realizada a altas temperaturas (37°C a 40°C) por 4 horas e, após, procede-se da mesma forma. O terceiro método propõe a simultânea hidrólise e acidificação do leite. A condição para a realização deste método é que a temperatura de incubação não exceda 40°C. A hidrólise acontecerá até o pH atingir 5,7 – quando a enzima é inativada. Nesse método, a dosagem de lactase pode ser reduzida se for realizada uma pré-hidrólise de aproximadamente 1 a 2 horas, antes da adição da cultura láctica.

CEZAR *et al.* (2005) utilizaram lactase para produzir iogurte sem lactose, com polpa de morango, por meio de fermentação convencional. A enzima foi adicionada

em diferentes momentos da fabricação dos iogurtes. O melhor resultado foi obtido com a adição da lactase ao leite por 4 horas a 42°C, seguido da adição da cultura láctica e incubação por mais 4 horas à mesma temperatura, pois apresentou maior grau de hidrólise e características sensoriais semelhantes ao iogurte produzido sem adição da enzima.

2.4 – IOGURTE

A história dos alimentos suplementados com microrganismos vivos remonta a milhares de anos atrás (GONZÁLEZ, 1997). Segundo KOSIKOWSKI², citado por PEREIRA (2002), o leite fermentado surgiu na Mesopotâmia em cerca de 5000 a.C. Desde então, o consumo em diferentes formas tem persistido até hoje.

O iogurte é reconhecidamente um alimento tradicional dos povos do Oriente Médio e o interesse nele fez com que se espalhasse para a Itália, França, Holanda, para outros países europeus e América do Norte. Nos países ocidentais, basicamente o seu consumo era devido a prescrições médicas em razão da reputação do seu valor terapêutico (FERREIRA, 1996).

Os efeitos benéficos do iogurte tiveram sua base científica no começo do século XIX, com Elie Metchnikoff, que relacionou saúde com alto consumo de leite ácido em populações búlgaras. É necessário salientar que suas observações se relacionavam com a ingestão de um produto diferente do que se conhece atualmente como o iogurte. Quando se fizeram cultivos puros em laboratório, Metchnikoff se dedicou ao estudo de uma só linhagem, *Bulgarian bacillus*, que por muito tempo foi considerado o que hoje se conhece por *Lactobacillus bulgaricus*. Posteriormente, verificou-se que o *Lactobacillus acidophilus* deveria ser o microrganismo contido naqueles produtos devido à afinidade deste microrganismo com o trato intestinal humano (GONZÁLEZ, 1997; PEREIRA, 2002).

² KOSIKOWSKI, F. V. **Cheese and fermented milk foods**, 2 ed. New York – USA: Kosikowski and Associates, 1978. 711p.

O iogurte possui um alto valor nutritivo e é considerado equilibrado e adequado a qualquer dieta. Durante a fermentação, a proteína, a gordura e a lactose do leite sofrem hidrólise parcial, tornando o produto facilmente digerível, sendo considerado agente regulador das funções digestivas (TEIXEIRA *et al.*, 2000; RODAS *et al.*, 2001).

O valor nutricional de leites fermentados é superior em relação ao conteúdo de vitaminas do complexo B quando comparado ao leite *in natura*. Os valores de niacina, ácido pantotênico, ácido fólico e vitamina B12 são, geralmente, reportados como superiores nos diferentes tipos de produtos lácticos fermentados (FERREIRA, 1997).

2.4.1 – Processo Geral de Fabricação

Por definição, o iogurte é o produto obtido pela fermentação láctica do leite, pela adição de *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* e *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus*. Segundo a legislação brasileira, podem-se acompanhar, de forma complementar, outras bactérias lácticas que, por sua atividade, contribuem para a determinação das características do produto final (BRASIL, 2000).

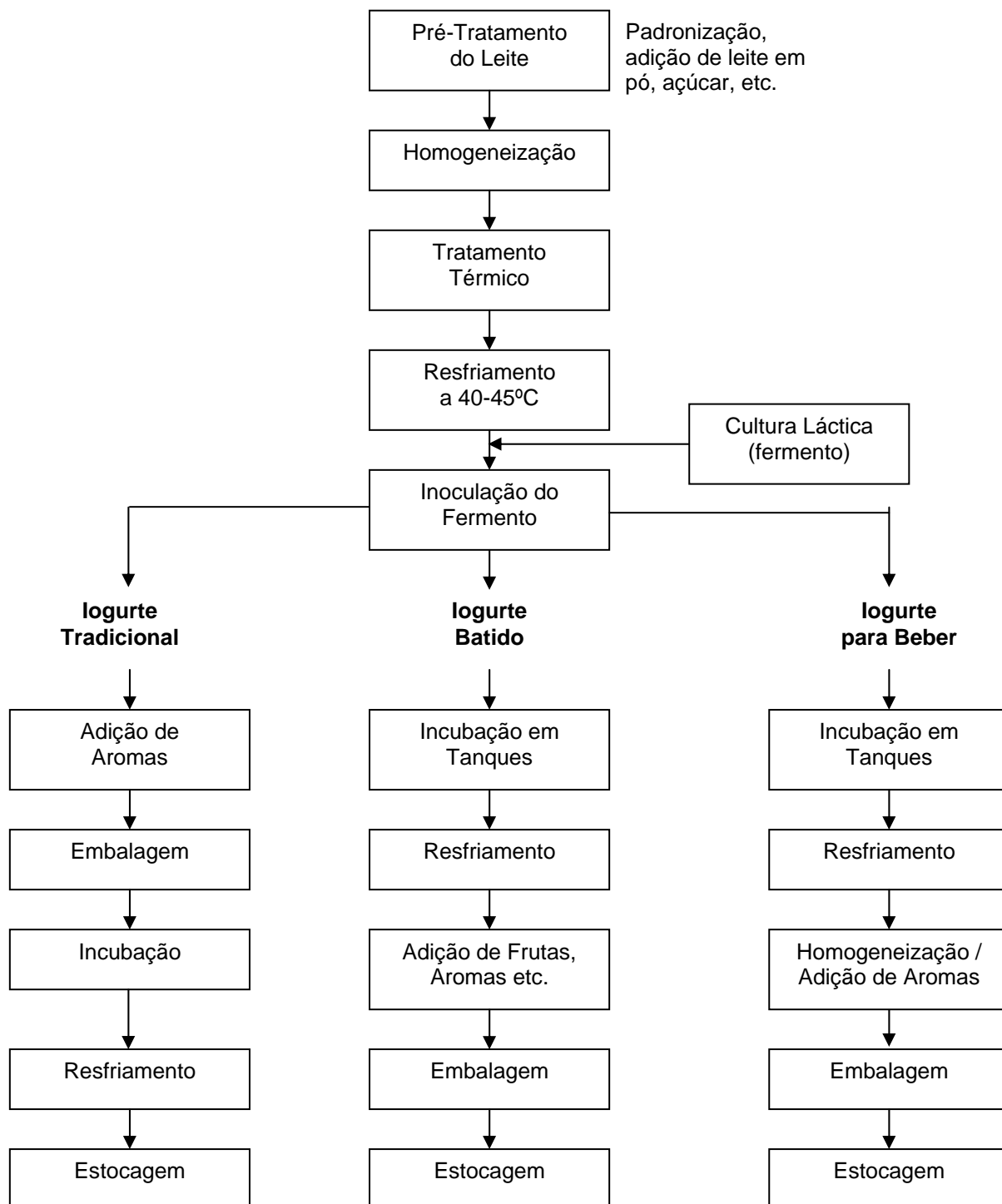
De acordo com a tecnologia de produção, KARDEL e ANTUNES (1997) citam três tipos de iogurte:

- Iogurte tradicional: fermentado na embalagem (natural ou com sabores);
- Iogurte batido: fermentado em tanques e adicionado ou não de frutas, geléias, polpas;
- Iogurte líquido "para beber": fermentado em tanques e também adicionado de frutas, suco, polpas.

O leite empregado no processamento do iogurte deve ser de boa procedência e qualidade, pois é responsável pelo seu valor nutricional e pela adequação do produto final ao seu padrão de identidade e qualidade estabelecido pela legislação (RODAS *et al.*, 2001).

A Figura 2.6 apresenta o diagrama geral de produção de iogurte tradicional, batido e líquido (para beber).

FIGURA 2.6 – DIAGRAMA GERAL DE PRODUÇÃO DE IOGURTE



FONTE: KARDEL e ANTUNES, 1997

O iogurte líquido difere do iogurte batido principalmente do ponto de vista sensorial, pela menor viscosidade e menor textura (OLIVEIRA, 1997). O iogurte natural deve ser fermentado dentro da embalagem na qual é comercializado. A legislação determina que sua consistência deve ser firme, pastosa ou semi-sólida, de cor branca, odor e sabor característicos. Deve ainda apresentar como requisitos físico-químicos 3,0g a 5,9g de gordura/100g e acidez na faixa de 0,6g a 1,5g de ácido láctico/100g (BRASIL, 2000). VEISSEYRE (1988) citou que o iogurte pode atingir um pH final de 3,6 a 4,3. Já MOREIRA *et al.* (1999) argumentaram que os valores de pH desejados estão entre 4,2 e 4,5.

Na etapa de pré-tratamento, o leite pode ser padronizado em seus teores de gorduras e sólidos não-gordurosos a fim de que apresente uma composição química constante, preservando-se as características sensoriais (sabor, aroma, textura e aspecto). Pode ser acrescentado açúcar (10% a 12%) e leite em pó desnatado (2% a 4%) para melhorar o extrato seco total, resultando em um produto mais consistente e reduzindo-se a tendência de sinerese no produto final (KARDEL; ANTUNES, 1997; OLIVEIRA, 1997). No iogurte batido a porcentagem de sólidos não-gordurosos, também chamados extrato seco desengordurado, deve estar na faixa de 8,5% a 10%. O iogurte tradicional, com textura mais firme, deve ter 12% de sólidos não-gordurosos (FERREIRA, 1996).

A homogeneização visa aumentar a estabilidade e consistência dos produtos fermentados, proporcionando um melhor corpo e brilho. Isto é devido ao fato de se diminuir drasticamente o tamanho dos glóbulos de gordura e dos demais sólidos e evitar-se a separação da gordura. O leite homogeneizado aumenta a firmeza do gel, além de melhorar o sabor do iogurte e a digestibilidade (KARDEL; ANTUNES, 1997; OLIVEIRA, 1997).

O aumento em viscosidade causado pela homogeneização está relacionado à mudança na capacidade de retenção de água das proteínas do leite. Isto também reduz a sinerese. A viscosidade também depende da temperatura de homogeneização. Segundo FERREIRA (1996), a melhor temperatura está entre

50°C e 60°C. Já OLIVEIRA (1997) citou que a temperatura pode variar de 55°C a 70°C e KARDEL e ANTUNES (1997) afirmaram que a temperatura de homogeneização deve variar entre 45°C e 55°C. Em um estudo conduzido por TAMIME (1997) para produção de iogurte com alto teor de sólidos, o leite foi pré-aquecido a 60°C e, então, homogeneizado.

A etapa do tratamento térmico tem como objetivos destruir os microrganismos patogênicos e desnaturar as proteínas do soro, melhorando as propriedades do leite como substrato para as bactérias da cultura láctica. Ainda serve para assegurar que o coágulo do produto fermentado seja firme e reduzir a formação de sinerese no produto final (KARDEL; ANTUNES, 1997; OLIVEIRA, 1997).

FERREIRA (1996) afirmou que o melhor tratamento térmico para o iogurte é de 83°C por 30 minutos. Segundo a autora, este binômio tempo-temperatura promove modificações de importância na estrutura físico-química das proteínas, provocando uma desnaturação parcial das proteínas do soro. Essa desnaturação parcial é fundamental na estabilidade do gel no iogurte. A interação promovida pelo calor entre a proteína do soro desnaturada e a caseína é importante, uma vez que aumenta as propriedades hidrofílicas da caseína, facilitando a formação de um coágulo estável. Este binômio promove também modificações no pH e nas propriedades nutritivas do substrato.

OLIVEIRA (1997) descreveu que os melhores resultados foram alcançados por meio de um tratamento térmico do leite entre 90°C e 95°C durante um tempo de 5 minutos. Assim, as proteínas do soro são desnaturadas, facilitando a sua precipitação e contribuindo para a estabilidade da textura do iogurte. Este mesmo binômio tempo-temperatura foi utilizado por TAMIME (1997). RODRIGUES (1999) citou que o tratamento térmico deve ser efetuado a 90°C por 3 a 5 minutos para garantir a destruição dos microrganismos indesejáveis, nunca se utilizando temperaturas abaixo de 80°C para a elaboração de iogurte. KARDEL e ANTUNES (1997) relataram que os objetivos do tratamento térmico podem ser obtidos escolhendo-se um dos binômios apresentados na Tabela 2.2.

TABELA 2.2 – TRATAMENTO TÉRMICO DO LEITE PARA PRODUÇÃO DE IOGURTE

TEMPERATURA	TEMPO
80°C	30 minutos
85°C	8 ½ minutos
90°C	3 ½ minutos
95°C	1 ½ minutos

FONTE: KARDEL e ANTUNES, 1997

O resfriamento subsequente a 41°C-44°C permite que se adicione de 0,5% a 1,5% de cultura láctica (KARDEL; ANTUNES, 1997; OLIVEIRA, 1997).

Logo após a inoculação, o *Streptococcus thermophilus* cresce primeiro. Com o seu crescimento, o ácido láctico é acumulado, abaixa parcialmente o pH e lança ao meio algumas substâncias aminadas originadas da proteína do soro que vão estimular o desenvolvimento do *Lactobacillus bulgaricus*. Este, por sua vez, passa a crescer, abaixa ainda mais o pH e lança ao meio aminoácidos como glicina, histidina e valina que estimulam o crescimento do *S. thermophilus*. Com o passar do tempo, cada vez mais ácido láctico é acumulado no meio. O pH chega a certo ponto que passa a inibir o *S. thermophilus*. O *L. bulgaricus* por ser mais resistente à acidez aumenta em número. No final do processo, existe um número bem maior de *L. bulgaricus* do que de *S. thermophilus*. O *L. bulgaricus*, no início, cresce lentamente, mas permanece viável por um tempo bem maior do que o *S. thermophilus*. Este, por sua vez, cresce mais rapidamente no início do processo. Ao pH 4,3, ambas as bactérias passam a ser inibidas (FERREIRA, 1996).

Segundo KARDEL e ANTUNES (1997), a incubação do leite deve ocorrer em estufa a 42°C-45°C por um período mínimo de 3 horas, até atingir o pH de 4,5. RODRIGUES (1999) constatou que ao atingir o ponto ideal da fermentação, o produto deverá apresentar um pH de 4,5 a 4,6 ou uma acidez de 70°D a 72°D.

O iogurte e outros produtos fermentados possuem uma maior durabilidade se comparados com leite pasteurizado, isto porque, o ácido láctico produzido pelas

bactérias lácticas durante o processo de incubação atua como inibidor de bactérias contaminantes e putrefativas, pela intolerância destas a acidez produzida. Portanto, o ácido láctico produzido atua como um conservante natural para estes produtos (RODRIGUES, 1999).

Para fabricação de iogurtes tradicionais, o produto deverá sofrer a mínima agitação possível durante todo o tempo de incubação e de resfriamento para evitar problemas de sinerese (KARDEL; ANTUNES, 1997).

O resfriamento representa uma das etapas mais importantes no processo de fabricação de iogurte. Essa fase deve iniciar-se imediatamente após alcançado o ponto isoelétrico da proteína (pH 4,6), devendo atingir a temperatura de 15°C em, no máximo, 30 minutos (KARDEL; ANTUNES, 1997; OLIVEIRA, 1997; RODRIGUES, 1999).

Após o resfriamento o produto deve ser armazenado em câmara fria, onde deverá permanecer a aproximadamente 5°C (OLIVEIRA, 1997).

O tipo de material mais utilizado em embalagem para iogurte é o polietileno, quimicamente inerte, não possui sabor nem odor, apresenta boa resistência a impactos e é de grande facilidade para o fechamento térmico (RODRIGUES, 1999).

2.5 – AVALIAÇÃO SENSORIAL

A análise sensorial é uma disciplina científica utilizada para evocar, medir, analisar e interpretar reações das características dos alimentos e materiais como são percebidas pelos sentidos da visão, olfato, gosto, tato e audição (ABNT, 1993a). A utilização dos órgãos dos sentidos humanos como “instrumentos” de medida devem ser incluídos como garantia de qualidade de alimentos (DELLA TORRE *et al.*, 2003). De fato, a importância de se avaliar os alimentos sensorialmente é de proporcionar ao consumidor prazer em consumir o produto, para ser aceito no mercado e, finalmente, se tornar um hábito alimentar. Com isso, a avaliação

sensorial se torna um suporte técnico tanto para a pesquisa, quanto para a indústria e o *marketing*.

Um dos objetivos da avaliação sensorial é comparar produtos alimentícios para detectar diferenças com base nos atributos sensoriais que os caracterizam. Para isso existem diversos métodos que podem ser utilizados.

A Análise Descritiva Quantitativa (ADQ) é o teste que identifica e quantifica, em ordem de ocorrência, as propriedades sensoriais (aparência, aroma, textura e sabor) de um produto, sendo considerado um dos métodos mais completos e sofisticados para a caracterização sensorial de importantes atributos sensoriais (ABNT, 1998a; DELLA TORRE *et al.*, 2003).

O Teste de Preferência pode ser aplicado para prever a aceitabilidade do produto. A determinação da aceitação pelo consumidor é de grande importância para o desenvolvimento ou melhoramento de produtos. Para estabelecer a aceitação de um produto é utilizada a escala hedônica onde o julgador expressa a sensação de gostar ou desgostar do produto (CARNEIRO *et al.*, 2005).

O tamanho e a composição da equipe de degustação dependem da experiência dos participantes e do tipo de teste sensorial empregado. O COMMITTEE ON SENSORY EVALUATION OF THE INSTITUTE OF FOOD TECHNOLOGISTS (1964) recomenda números variados de indivíduos de acordo com os diferentes graus de habilidade ou treinamento. Um número de três a dez julgadores é indicado para uma equipe de indivíduos treinados; de oito a vinte cinco julgadores, para uma equipe de indivíduos semi-treinados, ou então, oitenta ou mais julgadores quando não treinados.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1 – MATERIAL

3.1.1 – Matéria-Prima

Para a realização dos experimentos, foi utilizado leite pasteurizado tipo C padronizado e homogeneizado, proveniente de um laticínio da Região Metropolitana de Curitiba - Paraná. As amostras de leite foram obtidas em estabelecimentos comerciais da cidade de Curitiba, no Paraná, e transportadas para o Laboratório de Alimentos do Departamento de Engenharia Química da Universidade Federal do Paraná.

3.1.2 – Cultura Láctica

A cultura láctica utilizada para o processamento dos iogurtes foi do tipo termofílica, de cepas mistas, contendo: *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus* e *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*. A cultura láctica liofilizada foi gentilmente cedida pela empresa Chr. Hansen, sob a denominação comercial FD-DVS YF-L811 – Yo-Flex, e apresenta as seguintes características: alta viscosidade, sabor suave e baixa pós-acidificação. A temperatura de incubação recomendada é de 35°C a 45°C, sendo a temperatura ideal entre 42°C e 45°C, por um período de 2 a 3 horas. As informações técnicas do produto são apresentadas no Anexo 1.

3.1.3 – Enzima Lactase

A enzima lactase utilizada foi de origem microbiana, proveniente da levedura *Kluyveromyces lactis*, conforme especificado na legislação brasileira Resolução RDC nº 348/2003 sobre utilização de enzimas na indústria de alimentos (BRASIL, 2003b). A enzima foi gentilmente cedida pela empresa Prozyn. Segundo o fabricante, esta enzima apresenta atividade ótima em pH entre 6,6 e 6,8, podendo atuar em uma ampla faixa de temperatura, que varia de 6°C a 40°C. As informações técnicas do produto são apresentadas no Anexo 2.

3.2 – MÉTODOS

3.2.1 – Construção da Curva Padrão

Para determinar a atividade da lactase, foi construída uma curva padrão de hidrólise da lactose do leite em função de diferentes concentrações da enzima. Em amostras de leite foram adicionadas as seguintes quantidades da enzima: 0g/L, 0,2g/L, 0,4g/L, 0,6g/L, 0,8g/L e 1,0g/L. As amostras de leite contendo a lactase foram mantidas à temperatura de 40°C por 4 horas. Análises de crioscopia, determinadas pela medida direta com crioscópio eletrônico digital, da marca LAKTRON, modelo 312-L, segundo metodologia fornecida pelo fabricante e de acordo com a Instrução Normativa nº 22/03 (BRASIL, 2003a), foram realizadas em intervalos de 1 hora para determinar a porcentagem de hidrólise da lactose em cada amostra.

3.2.2 – Preparo da Cultura Láctica

A cultura láctica foi preparada seguindo as técnicas recomendadas pelo fabricante. Leite desnatado em pó foi reconstituído a 13% em água, colocado em

erlenmeyer e autoclavado à temperatura de 121°C por 15 minutos. Depois de resfriado, foi adicionado 0,1% cultura láctica liofilizada e incubado a 37°C por 6 a 8 horas.

3.2.3 – Processo de Fabricação do iogurte

Foram avaliados três métodos para a produção de iogurte com adição de lactase (GIST-BROCADES, 2004), representando três tratamentos:

- Método 1: hidrólise do leite pasteurizado a baixa temperatura (7°C), por aproximadamente 15 horas, com posterior acidificação do leite.
- Método 2: hidrólise do leite pasteurizado a alta temperatura (40°C) por 4 horas, com posterior acidificação do leite.
- Método 3: simultânea hidrólise e acidificação do leite à temperatura de 40°C.

3.2.3.1 – Tratamento térmico

O leite foi aquecido a 90°C/5 minutos e resfriado a temperatura necessária, de acordo com o método utilizado para a fabricação dos iogurtes. Para o tratamento 1 (L1), o leite foi resfriado à temperatura de 6°C a 10°C, adicionada a lactase e mantida a hidrólise por 15 horas. Para o tratamento 2 (L2), o leite foi resfriado à temperatura de 37°C a 40°C, adicionada a enzima e mantida a hidrólise por 4 horas. Logo após, as amostras L1 e L2 foram novamente aquecidas a 90°C/5 minutos (CARMINATTI, 2001) para a inativação enzimática e resfriadas a temperatura de refrigeração (4°C a 10°C). Para o tratamento 3 (L3) e para o controle (LC), os leites foram resfriados a temperatura de refrigeração (4°C a 10°C). Todas as amostras foram estocadas em câmara fria (7°C \pm 1°C) até o dia seguinte, quando foram utilizadas para a produção dos iogurtes.

Portanto, em cada processamento foram fabricados quatro iogurtes diferentes, sendo três iogurtes com adição da enzima lactase, seguindo os diferentes métodos, e um iogurte controle, elaborado sem a adição de lactase.

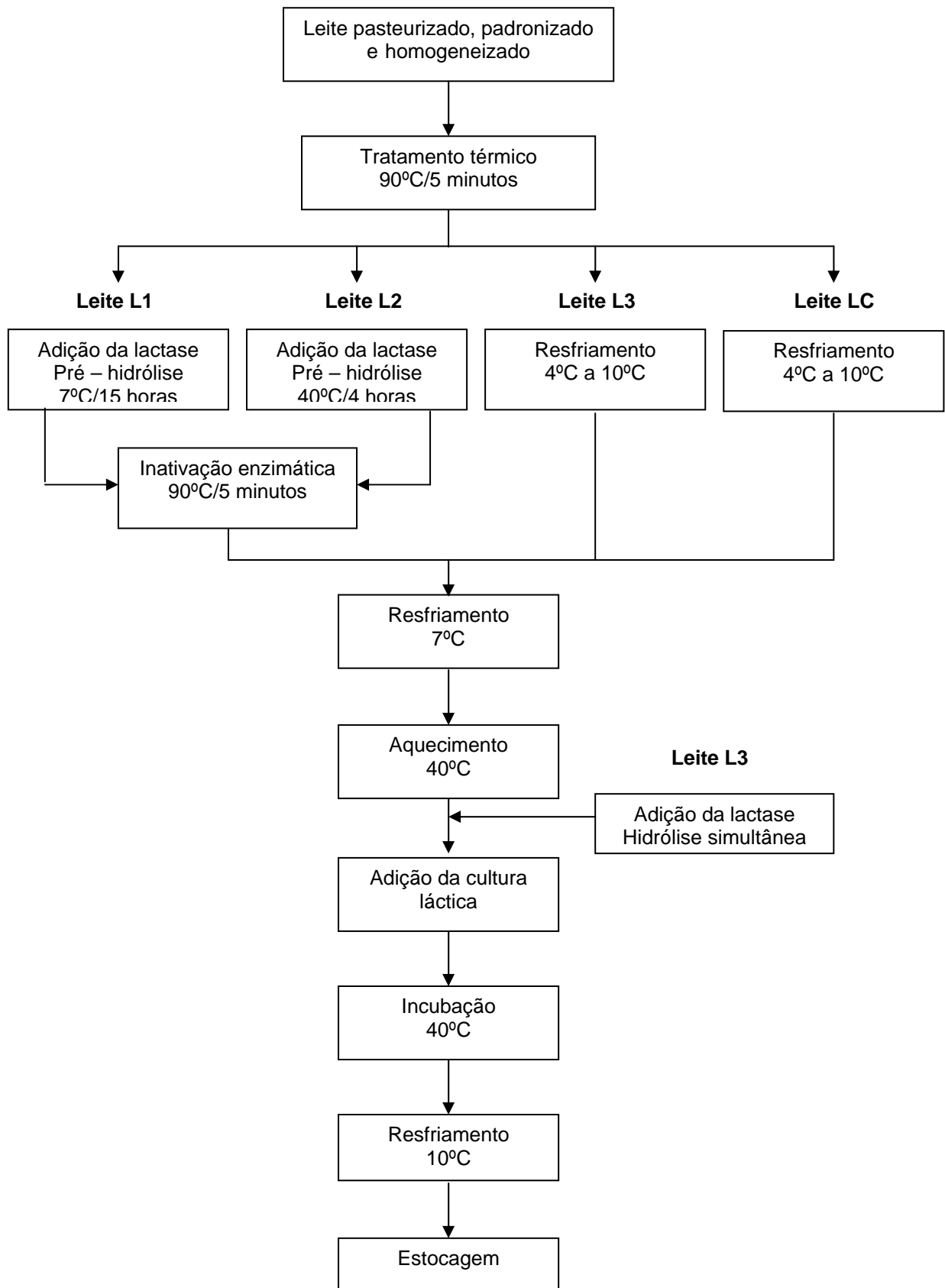
A Figura 3.1 apresenta os procedimentos que foram empregados no processamento dos iogurtes.

No dia da fabricação, as amostras foram aquecidas a 40°C, inoculadas com 2,5% (em relação ao volume de leite) de cultura láctica previamente preparada e homogeneizadas. Ao leite L3 foi adicionada também a lactase, para simultânea hidrólise e acidificação. As etapas de pré-tratamento do leite (adição de leite em pó e açúcares) e a adição de polpa de frutas e aromas foram retiradas para que os resultados obtidos não fossem alterados físico-química e sensorialmente.

Em seguida, porções de cada amostra foram acondicionadas em embalagens, assim, a fermentação dos iogurtes se processou na própria embalagem.

Durante o período de incubação dos iogurtes, o pH e a acidez titulável foram determinados em intervalo de tempo de trinta minutos. O objetivo foi acompanhar o tempo de fermentação, que foi considerado o necessário para que o pH atingisse o valor de $4,75 \pm 0,05$. Esse valor foi determinado em função do ponto isoelétrico da proteína (4,60), levando em consideração o abaixamento que ocorre no pH durante o resfriamento.

Após o processamento, os produtos foram rapidamente resfriados a 10°C e armazenados em câmara fria à temperatura de $7^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$.

FIGURA 3.1 – DIAGRAMA GERAL DO PROCESSAMENTO DE IOGURTE NATURAL

3.2.4 – Análises Físico-Químicas

3.2.4.1 – Matéria-prima

As amostras de leite pasteurizado, padronizado e homogeneizado foram avaliadas quanto a:

- **pH:** foi determinado pela medida direta com potenciômetro digital, modelo TEC – 2, da marca Tecnal, introduzindo-se o eletrodo de vidro diretamente nas amostras, segundo a metodologia descrita por IAL (1985) no item 4.7.2;
- **Acidez titulável:** foi determinada por meio da titulação da amostra com solução de NaOH 0,1N, na presença do indicador fenolftaleína, segundo a metodologia descrita por IAL (1985) no item 15.1.5.1;
- **Densidade a 15°C:** foi determinada pela medida direta com termolactodensímetro, segundo metodologia descrita na Instrução Normativa nº 22/03 (BRASIL, 2003a);
- **Gordura:** foi determinada pelo método de Gerber, com o auxílio do lactobutirômetro de Gerber, segundo a metodologia descrita por IAL (1985) no item 15.1.9.1;
- **Extrato Seco Total:** foi determinado pela fórmula de Fleishmann, utilizando os valores de densidade e porcentagem de gordura obtidos anteriormente, segundo a Instrução Normativa nº 22/03 (BRASIL, 2003a);
- **Lactose:** foi determinada pelo método de Fehling, de acordo com a Instrução Normativa nº 22/03 (BRASIL, 2003a).

3.2.4.2 – Iogurtes

Os iogurtes elaborados foram avaliados após a fermentação e no 7º dia de estocagem quanto ao pH e à acidez, e no 12º dia de estocagem quanto ao pH, acidez e lactose. A determinação do teor de lactose foi realizada por Cromatografia

Líquida de Alta Eficiência (HPLC), segundo o método 980.13 descrito por AOAC (2000).

3.2.5 – Avaliação Sensorial

A avaliação sensorial foi realizada no Laboratório de Análise Sensorial de Alimentos do Departamento de Engenharia Química da Universidade Federal do Paraná. O objetivo da avaliação sensorial foi caracterizar as diferenças entre os iogurtes, comparando as amostras obtidas com baixo teor de lactose com a amostra controle, com teor de lactose normal. Para isso foi utilizado o Teste de Análise Descritiva Quantitativa. Também foi realizado o Teste de Preferência. Os testes foram realizados entre o 5º e o 7º dia de estocagem.

3.2.5.1 – Seleção de julgadores

Os julgadores foram recrutados entre os alunos de graduação de Engenharia Química e Pós-Graduação em Tecnologia de Alimentos da UFPR, em função do interesse, disponibilidade, e capacidade de reconhecer características sensoriais em iogurtes, provenientes do consumo regular desses produtos.

Para a seleção da equipe, 21 julgadores avaliaram a diferença global entre duas amostras de iogurte natural de marcas comerciais diferentes, de acordo com o teste triangular (ABNT, 1993b; DUTCOSKY, 1996). Foram apresentadas simultaneamente três amostras de iogurte natural, com as posições casualizadas entre os julgadores, codificadas com algarismos de três dígitos, sendo que duas eram idênticas e uma diferente. As amostras foram servidas à temperatura de $10^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$, e ao julgador foi solicitado preencher uma ficha, indicando a amostra diferente. O modelo da ficha utilizada é apresentado na Figura 3.2.

Os resultados individuais de cada julgador foram avaliados e a equipe para o teste de ADQ foi composta de 12 julgadores que apresentaram habilidade de

diferenciar amostras de iogurtes. Dos julgadores selecionados, três eram do sexo masculino e nove do sexo feminino, com idades variando entre 21 e 45 anos.

FIGURA 3.2 – MODELO DA FICHA UTILIZADA NO TESTE TRIANGULAR PARA SELEÇÃO DA EQUIPE DE JULGADORES

Nome: _____ Idade: _____ Data: _____
TESTE TRIANGULAR
No grupo de amostras apresentadas, duas são iguais e uma é diferente. Deguste cuidadosamente cada uma das amostras, na ordem em que estão sendo apresentadas, e faça um círculo em volta da amostra diferente.
<div style="text-align: center;">Código da Amostra ____ _</div>

3.2.5.2 – Análise descritiva quantitativa

O teste de ADQ (ABNT, 1998a) teve início com o levantamento dos termos descritivos para iogurte, por meio do método de rede (DUTCOSKY, 1996; DELLA TORRE *et al.*, 2003). Dois pares de amostras, iogurtes com baixo teor de lactose e com teor de lactose normal, foram oferecidas aos julgadores para que avaliassem sensorialmente e verbalizassem as sensações percebidas, relatando as diferenças e similaridades entre as amostras. Em seguida, os julgadores reunidos em grupos, sob a supervisão de um líder, fizeram uma lista dos atributos sensoriais que caracterizavam os produtos (Tabela 3.1). Após discussão, a equipe agrupou termos sinônimos e definiu os termos descritivos que melhor caracterizavam as amostras.

Com os termos descritivos definidos, juntamente com os materiais de referência (Tabela 3.2), foi elaborada a ficha de avaliação das amostras.

TABELA 3.1 – ATRIBUTOS SENSORIAIS MAIS UTILIZADOS PARA AS AMOSTRAS DE IOGURTES

Atributos Sensoriais	Definições
Consistência	Força requerida para retirar o produto do copo com a colher
Creiosidade	Presença ou ausência de grânulos na boca
Sinerese	Despreendimento de soro após a quebra do coágulo
Acidez	Sensação do gosto ácido na língua
Sabor Doce	Sensação do gosto doce na língua

TABELA 3.2 – TERMOS DESCRITIVOS, DEFINIÇÕES E MATERIAIS DE REFERÊNCIA UTILIZADOS NO TESTE DE ADQ

Atributos Sensoriais	Definições	Materiais de Referências
Consistência	Força requerida para retirar o produto do copo com a colher e sensação de cremosidade na língua	Menor intensidade: água Maior intensidade: iogurte natural de marca comercial
Acidez	Sensação do gosto ácido na língua	Menor intensidade: água Maior intensidade: iogurte natural de marca comercial
Sabor Doce	Sensação do gosto doce na língua	Menor intensidade: iogurte natural de marca comercial Maior intensidade: adição de 2,5% de sacarose em iogurte natural

Na seqüência, foi realizado o treinamento com os julgadores para estabelecer as intensidades mínima e máxima dos atributos a serem avaliados. Para determinar a intensidade mínima para consistência e acidez, os julgadores receberam água, e para determinar a intensidade máxima, os julgadores receberam uma amostra de iogurte natural comercial (pH 4,31 e acidez de 0,89% de ácido láctico). Para determinar a intensidade mínima para o atributo sabor doce, os julgadores receberam uma amostra de iogurte natural comercial, e para determinar a intensidade máxima, os julgadores receberam uma amostra de iogurte natural, na qual foi adicionado 2,5% de sacarose (em relação ao volume de iogurte). Esta etapa se fez necessária, pois foram utilizadas escalas não-estruturadas de nove centímetros, que indicam a intensidade do atributo que está sendo avaliado.

Após o treinamento, os testes sensoriais foram conduzidos individualmente. O julgador recebeu uma amostra de iogurte por vez, totalizando quatro amostras, e preencheu a ficha, assinalando a intensidade percebida do atributo avaliado. As amostras foram apresentadas com as posições casualizadas entre os julgadores e codificadas com algarismos de três dígitos. Para o atributo consistência, a escala de nove centímetros foi ancorada à esquerda pelo termo de intensidade "pouco espessa" e à direita pelo termo "muito espessa". Para o atributo acidez, a escala foi ancorada à esquerda pelo termo "pouco ácido" e à direita por "muito ácido". Finalmente, para o atributo sabor doce, a escala foi ancorada à esquerda pelo termo "pouco doce" e à direita por "muito doce" (DUTCOSKY, 1996; ABNT, 1998b). O modelo da ficha utilizada é apresentado na Figura 3.3.

FIGURA 3.3 – MODELO DA FICHA UTILIZADA NA ANÁLISE DESCRITIVA QUANTITATIVA

Nome: _____ Data: _____		
ANÁLISE DESCRITIVA QUANTITATIVA		
Prove cuidadosamente cada amostra de iogurte apresentada, avaliando inicialmente as características de consistência e após, a acidez e o sabor doce. Marque com um traço na escala a intensidade percebida do atributo solicitado.		
1. CONSISTÊNCIA: na colher (quebra do gel) e na boca (cremosidade)		
Amostra	Pouco espessa	Muito espessa
_____	_____	_____
_____	_____	_____
_____	_____	_____
_____	_____	_____
2. ACIDEZ:		
Amostra	Pouco ácido	Muito ácido
_____	_____	_____
_____	_____	_____
_____	_____	_____
_____	_____	_____
3. SABOR DOCE:		
Amostra	Pouco doce	Muito doce
_____	_____	_____
_____	_____	_____
_____	_____	_____
_____	_____	_____

3.2.5.3 – Teste de preferência

Participaram do teste de preferência 29 julgadores semi-treinados que foram orientados a avaliarem as amostras de iogurte em relação à percepção global das características, utilizando uma escala hedônica de nove pontos. As escalas tinham como extremos os termos "1 – Desgostei muitíssimo" e "9 – Gostei muitíssimo" (ABNT, 1998b). O modelo da ficha utilizada neste teste é apresentado na Figura 3.4.

FIGURA 3.4 – MODELO DA FICHA UTILIZADA NO TESTE DE PREFERÊNCIA

Julgador: _____ Data: _____											
TESTE DE PREFERÊNCIA											
Avalie cada amostra de iogurte, usando a escala abaixo para descrever o quanto gostou ou desgostou do produto.											
<div>1 - Desgostei muitíssimo 2 - Desgostei muito 3 - Desgostei regularmente 4 - Desgostei ligeiramente 5 - Indiferente 6 - Gostei ligeiramente 7 - Gostei regularmente 8 - Gostei muito 9 - Gostei muitíssimo</div>											
<table border="1" style="margin: auto; border-collapse: collapse;"><thead><tr><th style="padding: 5px;">AMOSTRA</th><th style="padding: 5px;">VALOR</th></tr></thead><tbody><tr><td style="height: 20px;"></td><td></td></tr><tr><td style="height: 20px;"></td><td></td></tr><tr><td style="height: 20px;"></td><td></td></tr><tr><td style="height: 20px;"></td><td></td></tr></tbody></table>		AMOSTRA	VALOR								
AMOSTRA	VALOR										
Comentários: _____											

3.2.6 – Análises Estatísticas

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, considerando-se quatro tratamentos (L1, L2, L3 e LC), com três repetições. Os resultados obtidos nas determinações físico-químicas da matéria-prima e das amostras de iogurtes foram tratados estatisticamente, sendo calculado os desvios padrões e realizada a Análise de Variância (ANOVA), quando necessário. Neste caso, inicialmente as variâncias dos tratamentos foram avaliadas quanto à sua homogeneidade. As variáveis cujas variâncias mostraram-se homogêneas tiveram as médias dos tratamentos testadas por meio do teste de F, enquanto que as que apresentaram heterogeneidade tiveram os valores originais transformados para posterior análise. Quando os resultados revelaram existir diferenças estatisticamente significantes entre as médias dos tratamentos, essas foram comparadas pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de significância (KOEHLER, 1999).

Nas avaliações sensoriais, os resultados do teste de ADQ foram analisados estatisticamente por ANOVA de 2 fatores (julgador e amostra) e teste de média de Tukey ($p < 0,05$). Os dados do teste de preferência foram analisados por histogramas de porcentagem de notas e estatisticamente por ANOVA e teste de média de Tukey ($p < 0,05$). Para os resultados de preferência, obtidos em porcentagem, foram computados o número de vezes que o produto foi escolhido.

Para o conjunto das análises estatísticas, foi utilizado o programa computadorizado MSTAT-C, versão 2.10 (MICHIGAN STATE UNIVERSITY, 1989).

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 – CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS DA MATÉRIA-PRIMA

A Tabela 4.1 apresenta os valores médios de pH, acidez, densidade, gordura, extrato seco total e lactose do leite pasteurizado utilizado para o processamento dos iogurtes.

TABELA 4.1 – CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS DA MATÉRIA-PRIMA*

<i>Análise</i>	<i>Leite pasteurizado</i>
pH	6,66 ± 0,07
Acidez Titulável (% ácido láctico / °Dornic)	0,15 ± 0,01 / 16,41 ± 0,78
Densidade (g/mL)	1,0324 ± 0,0002
Gordura (%)	3,03 ± 0,06
Extrato Seco Total (%)	11,99 ± 0,09
Lactose	4,11 ± 0,02

*Valores relativos à média ± desvio padrão das amostras de leite dos três processamentos de iogurte, analisados em triplicatas.

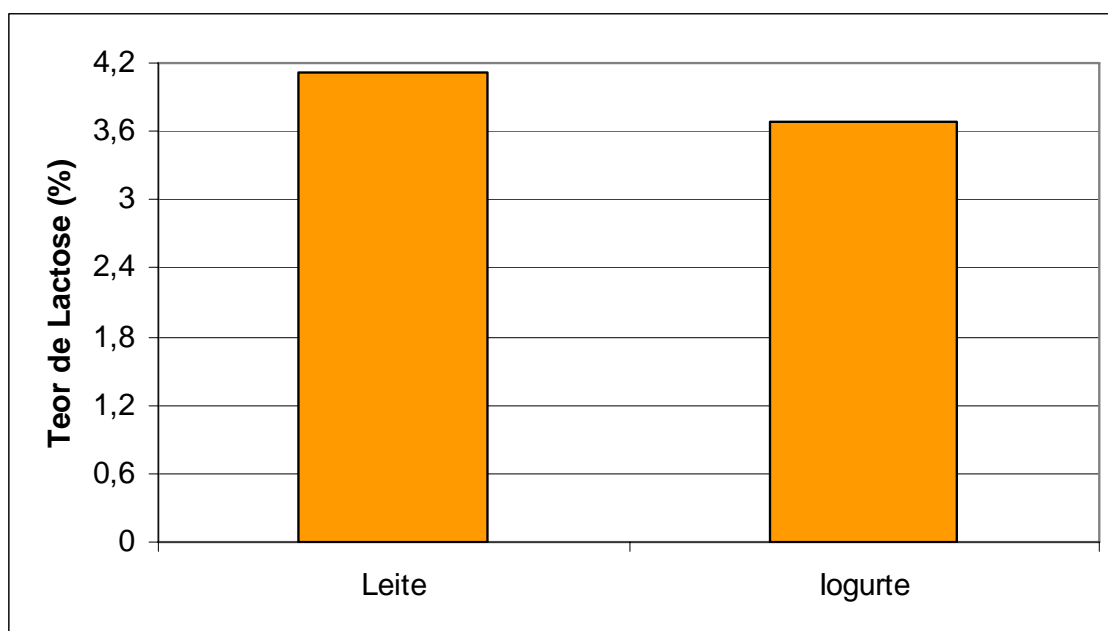
Pela Tabela 4.1 é possível observar que as amostras de leite pasteurizado utilizadas nas três repetições do processo de fabricação dos iogurtes apresentaram os resultados das análises físico-químicas conforme os padrões exigidos pela Instrução Normativa nº 51/02 (BRASIL, 2002) e de acordo com a literatura (GOURSAUD, 1991), caracterizando assim uma matéria-prima de boa qualidade. Como as amostras de leite foram provenientes de um mesmo laticínio, suas características físico-químicas sofreram poucas variações. Isso pode ser

comprovado pelos baixos desvios padrões obtidos das médias das análises realizadas, mostrando que houve repetibilidade nos três processamentos realizados. Portanto, pode-se afirmar que não houve variação nas características da matéria-prima que pudessem comprometer a avaliação da influência da adição de lactase nos iogurtes obtidos.

4.2 – REDUÇÃO DO TEOR DE LACTOSE NA PRODUÇÃO DE IOGURTE NATURAL

A Figura 4.1 apresenta o teor de lactose presente na matéria-prima e no iogurte natural produzido.

FIGURA 4.1 – TEOR DE LACTOSE NO LEITE E NO IOGURTE NATURAL PRODUZIDO



As amostras de leite pasteurizado utilizadas apresentaram valor médio de 4,11% de lactose, um nível que pode causar desconforto para pessoas com intolerância à lactose depois de consumir aproximadamente 220mL (HOLSINGER;

KLIGERMAN, 1991). Em leite bovino tem sido encontrado teores de lactose entre 3,48% e 4,49% (MANAN; KARIM; KIT, 1999; CEZAR *et al.*, 2005). Sabe-se que essa variação ocorre porque a composição do leite sofre influências em razão da alimentação, raça, estação do ano, período de lactação e muitos outros fatores (MANAN; KARIM; KIT, 1999).

Depois da fermentação, o iogurte natural apresentou, em média, 3,69% de lactose, uma redução de 10,22% em relação à matéria-prima. Porém este nível ainda pode causar desconforto para consumidores intolerantes à lactose, pois 89,78% do teor de lactose original permaneceu no produto. Segundo HOLSINGER e KLIGERMAN (1991), os sintomas da intolerância podem ser eliminados quando a lactose é reduzida em 70%, chegando-se a um valor calculado em aproximadamente 1,23% de lactose quando 220mL de produto lácteo é consumido (MANAN; KARIM; KIT, 1999).

A redução do teor de lactose encontrada está de acordo com GALVÃO, FERNANDES e SAWAMURA (1995) que relataram estudos feitos com o iogurte, demonstrando que o conteúdo de lactose no mesmo se mantém em níveis de 70% a 90% daquele do leite integral.

FERRONATO *et al.* (2004) fizeram uma avaliação dos teores de lactose em iogurtes e leites fermentados comerciais como subsídio para orientação nutricional de pacientes com intolerância à lactose e constataram que esses produtos apresentaram em média 30% menos lactose que o leite. Com isso eles indicaram que iogurtes e leites fermentados podem ser tolerados por pessoas que possuem má absorção de lactose, mas não pelos intolerantes à lactose.

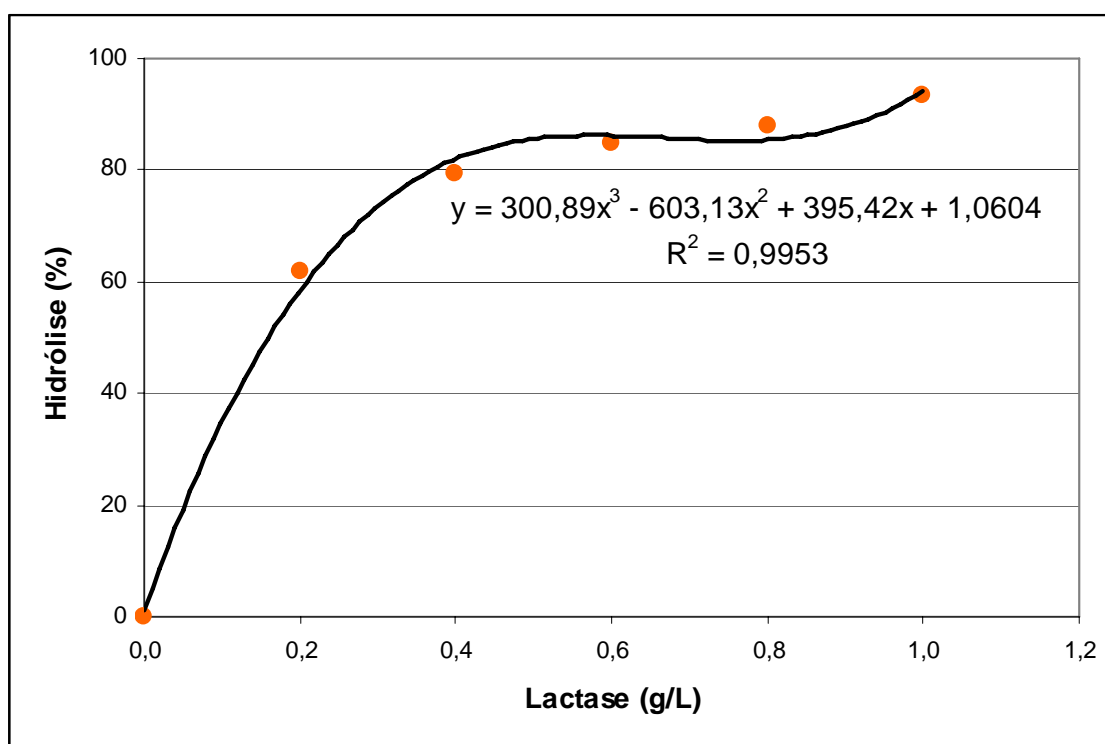
PEREIRA (2002) observou uma redução no teor de lactose durante as etapas de fermentação e resfriamento de iogurtes que variou de 21% a 24%.

BARRANTES *et al.* (1996) constataram que a redução aproximada na concentração de lactose em iogurte fresco e em iogurte estocado foi de 34% e 40%, respectivamente. Isso explica porque a porcentagem de redução da lactose no iogurte fresco foi menor que no iogurte estocado.

4.3 – CONSTRUÇÃO DA CURVA PADRÃO

A hidrólise da lactose foi determinada aplicando-se uma correlação crioscopia versus porcentagem de hidrólise, recomendado por PROZYN (2004). Os graus de hidrólise obtidos em função das quantidades de lactase, nos intervalos de tempo de uma hora, são apresentados no Apêndice 1. A curva padrão foi obtida, considerando-se os resultados ao final de 4 horas de hidrólise, como apresentada na Figura 4.2.

FIGURA 4.2 – PORCENTAGEM DE HIDRÓLISE DA LACTOSE EM LEITE PASTEURIZADO, APÓS 4 HORAS, EM FUNÇÃO DE DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE ENZIMA LACTASE



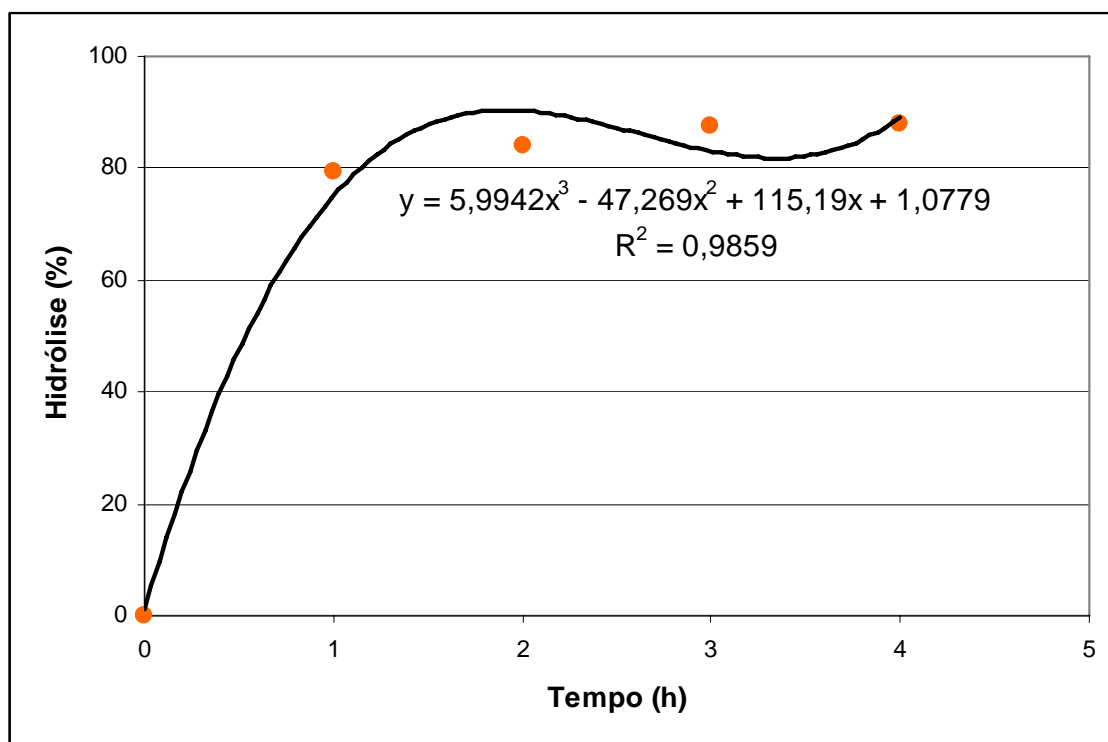
De acordo com a curva padrão construída pode-se verificar que existe um alto grau de correlação ($R^2 = 0,9953$) entre a concentração de lactase adicionada ao leite e a porcentagem de hidrólise da lactose. CUNHA *et al.* (2005) também encontraram

um alto grau de correlação em uma curva padrão construída para o desenvolvimento de embalagem ativa para a fabricação de leite delactosado.

A concentração de 0,8g/L de enzima lactase adicionada diretamente ao leite a 40°C por um período de 4 horas promoveu 88,07% de hidrólise do leite. Essa concentração foi a escolhida para ser aplicada no processamento dos iogurtes, considerando-se a redução do teor de lactose encontrada na fabricação de iogurte natural, como discutido no item 4.2.

Também foi construída uma curva padrão correlacionando-se o grau de hidrólise em função do tempo para a concentração de 0,8g/L de lactase, como apresentada na Figura 4.3. Mais uma vez observa-se um alto grau de correlação ($R^2 = 0,9859$). Os resultados obtidos para as demais concentrações são apresentados no Apêndice 2.

FIGURA 4.3 – PORCENTAGEM DE HIDRÓLISE DA LACTOSE EM LEITE PASTEURIZADO, UTILIZANDO-SE 0,8 g/L DE LACTASE, EM FUNÇÃO DO TEMPO



4.4 – INFLUÊNCIA DA ADIÇÃO DE LACTASE NA PRODUÇÃO DOS IOGURTES

A Tabela 4.2 apresenta os valores médios e desvio padrão de pH inicial e final e acidez inicial e final dos três processamentos realizados. As curvas individuais de pH e acidez para cada iogurte produzido estão apresentadas no Apêndice 3. Os valores de pH e acidez iniciais são iguais para todos os produtos, pois foi utilizada a mesma matéria-prima na produção dos diferentes iogurtes. Pela Tabela 4.2 observa-se que a adição de lactase não influenciou significativamente os valores de acidez final na produção dos iogurtes ($p = 0,6059$).

TABELA 4.2 – VALORES MÉDIOS DE pH E ACIDEZ DO PROCESSO DE FERMENTAÇÃO DOS IOGURTES OBTIDOS

Análise	Tratamento L1	Tratamento L2	Tratamento L3	Tratamento LC
pH inicial	6,66 ± 0,07	6,66 ± 0,07	6,66 ± 0,07	6,66 ± 0,07
pH final	4,79 ± 0,06	4,79 ± 0,04	4,80 ± 0,02	4,73 ± 0,03
Acidez inicial *	0,15 ± 0,01	0,15 ± 0,01	0,15 ± 0,01	0,15 ± 0,01
Acidez final *	0,64 ± 0,06	0,62 ± 0,03	0,60 ± 0,01	0,63 ± 0,03

* Acidez em % ácido láctico.

Na Tabela 4.3 é possível verificar que a adição de lactase afetou significativamente ($p = 0,0338$) o tempo de fermentação dos iogurtes. O iogurte com teor de lactose normal (LC) apresentou menor tempo de fermentação (em média 195 minutos), enquanto que os iogurtes com adição de lactase apresentaram maiores tempos de fermentação (em média 228 minutos).

TABELA 4.3 – TEMPO MÉDIO DE FERMENTAÇÃO DOS IOGURTES OBTIDOS

Produtos	Tempo Médio de Fermentação * (minutos) **
Tratamento L1	235 ± 8,66 ^a
Tratamento L2	225 ± 15 ^{ab}
Tratamento L3	225 ± 15 ^{ab}
Tratamento LC	195 ± 15 ^b

* Tempo necessário para o produto atingir pH 4,75 ± 0,05.

** Os valores com letras iguais não diferiram estatisticamente entre si ao nível de 5% de significância.

A adição de lactase aumentou em aproximadamente 15% o tempo de fermentação dos iogurtes. Esse resultado é parecido com o obtido por PEREIRA (2002), que observou que o tempo de fermentação de amostras de leite com teor de lactose normal foi menor (em média 206 minutos) que o tempo de fermentação de amostras com teor de lactose reduzido (em média 233 minutos).

4.5 – CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS DOS PRODUTOS OBTIDOS

A Tabela 4.4 apresenta os valores de pH e acidez no 7º dia de estocagem e teor de lactose, pH e acidez no 12º dia de estocagem dos iogurtes obtidos.

TABELA 4.4 – CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS DOS IOGURTES OBTIDOS *

Tempo de estocagem (dia)	Análise	iogurte L1	iogurte L2	iogurte L3	iogurte LC
7	pH	4,44 ± 0,03 ^b	4,55 ± 0,02 ^a	4,52 ± 0,01 ^a	4,41 ± 0,05 ^b
	Acidez **	0,82 ± 0,01 ^a	0,74 ± 0,02 ^b	0,74 ± 0,00 ^b	0,82 ± 0,00 ^a
12	pH	4,33 ± 0,03 ^b	4,48 ± 0,01 ^a	4,44 ± 0,03 ^a	4,27 ± 0,01 ^c
	Acidez **	0,84 ± 0,03 ^a	0,77 ± 0,01 ^a	0,78 ± 0,06 ^a	0,88 ± 0,01 ^a
	Lactose ***	0,61	ILD ****	0,56	2,11

* Os valores com letras iguais, na mesma linha, não diferiram estatisticamente entre si ao nível de 5% de significância.

** % ácido láctico

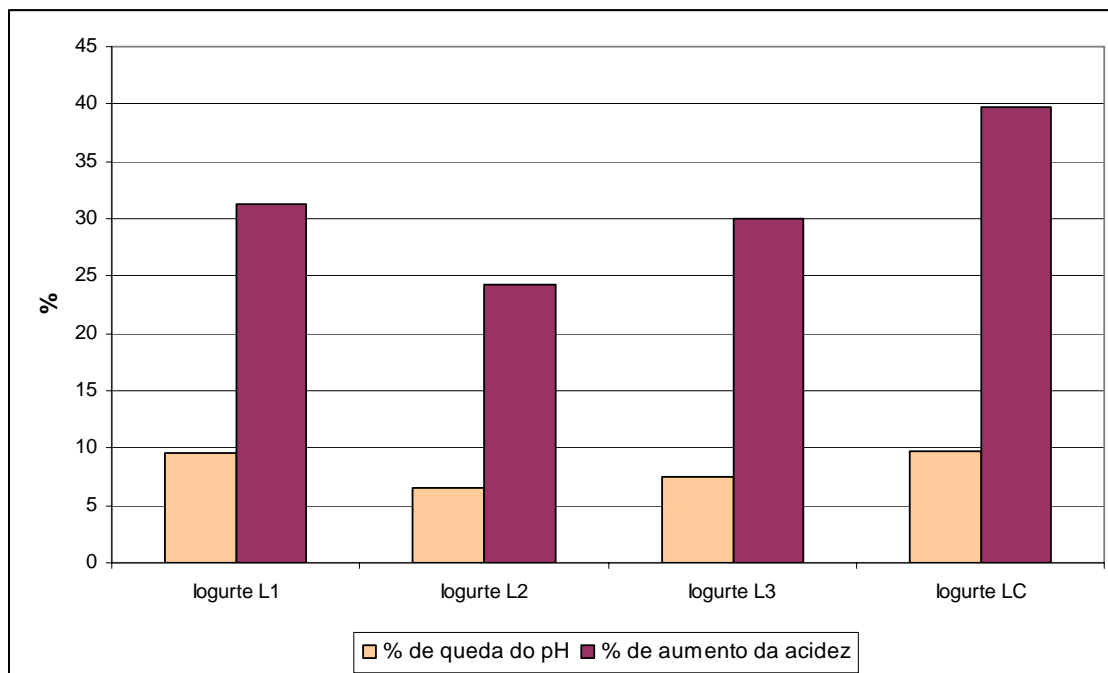
*** g/100g - Os certificados de análises estão apresentados no Anexo 3

**** Inferior ao Limite de Detecção = 0,50g lactose/100g de produto

Todos os iogurtes apresentaram acidez dentro do limite permitido pela legislação, que é de, no mínimo, 0,6g de ácido láctico/100g de iogurte e, no máximo, 1,5g de ácido láctico/100g de iogurte (BRASIL, 2000).

Se for feita uma comparação entre os valores de pH e acidez apresentados na Tabela 4.2, obtidos no final da fermentação, e na Tabela 4.4, obtidos no 12º dia de estocagem, é possível observar que, independente da adição de lactase, os iogurtes estão sujeitos ao decréscimo significativo do pH ($p = 0,0018$) e aumento significativo da acidez ($p = 0,0026$) durante a estocagem refrigerada, conhecida como pós-acidificação (PEREIRA, 2002). Isso se deve ao fato de que as bactérias lácticas continuam suas atividades metabólicas mesmo depois de encerradas as condições de fermentação. As porcentagens de queda no pH e aumento na acidez para cada iogurte obtido são apresentadas na Figura 4.4. A queda no pH variou de 6,47% a 9,73% e o aumento na acidez, de 24,19% a 39,68%. PEREIRA (2002) relatou uma queda de 8,77% no valor do pH em 14 dias de estocagem de iogurtes.

FIGURA 4.4 – PORCENTAGEM DE QUEDA NO pH E AUMENTO NA ACIDEZ DOS IOGURTES EM 12 DIAS DE ESTOCAGEM



Observa-se também na Tabela 4.4 que, no 7º dia de estocagem, os iogurtes L1 e LC apresentaram queda de pH ($p = 0,0367$) e aumento de acidez ($p = 0,0026$) significativamente maiores que os iogurtes L2 e L3. Isso provavelmente se deve à relação entre a acidez e o teor de lactose descrita por FERREIRA (1996). Porém o iogurte LC, com teor de lactose normal, sofreu uma maior queda de pH ($p = 0,0022$) em 12 dias de estocagem, portanto, uma maior pós-acidificação em comparação aos iogurtes L1, L2 e L3, com baixo teor de lactose, sendo que o iogurte L1 também diferiu significativamente dos iogurtes L2 e L3.

Em valores absolutos, o iogurte LC apresentou maior quantidade de lactose que os iogurtes L1, L2 e L3, provando que a adição da lactase reduziu o teor de lactose dos iogurtes (redução de 85,16% e 86,37% no teor de lactose para os iogurtes L1 e L3, respectivamente).

Os teores de lactose encontrados nas amostras de iogurtes L1, L2 e L3 são considerados baixos e, segundo a literatura (HOLSINGER; KLIGERMAN, 1991;

MANAN; KARIM; KIT, 1999), os sintomas da intolerância à lactose podem ser eliminados. Porém apenas os iogurtes L2 e L3 estão de acordo com a legislação que regulamenta os alimentos para fins especiais (alimentos para dietas com restrição de carboidratos), por meio da Portaria nº 29/98 (BRASIL, 1998).

De acordo com os dados apresentados, verifica-se que os tratamentos L2 e L3 não diferiram estatisticamente entre si ($p > 0,05$), além de serem os mais adequados do ponto de vista físico-químico, apresentando baixa pós-acidificação e baixo teor de lactose. Entretanto, se for considerada a viabilidade econômica, observa-se uma redução de quatro horas de processamento no Tratamento L3 em relação ao Tratamento L2.

4.6 – AVALIAÇÃO SENSORIAL

4.6.1 – Análise Descritiva Quantitativa

A Análise Descritiva Quantitativa avaliou a consistência, a acidez e o sabor doce nos iogurtes. As médias obtidas para estes atributos são apresentadas na Tabela 4.5.

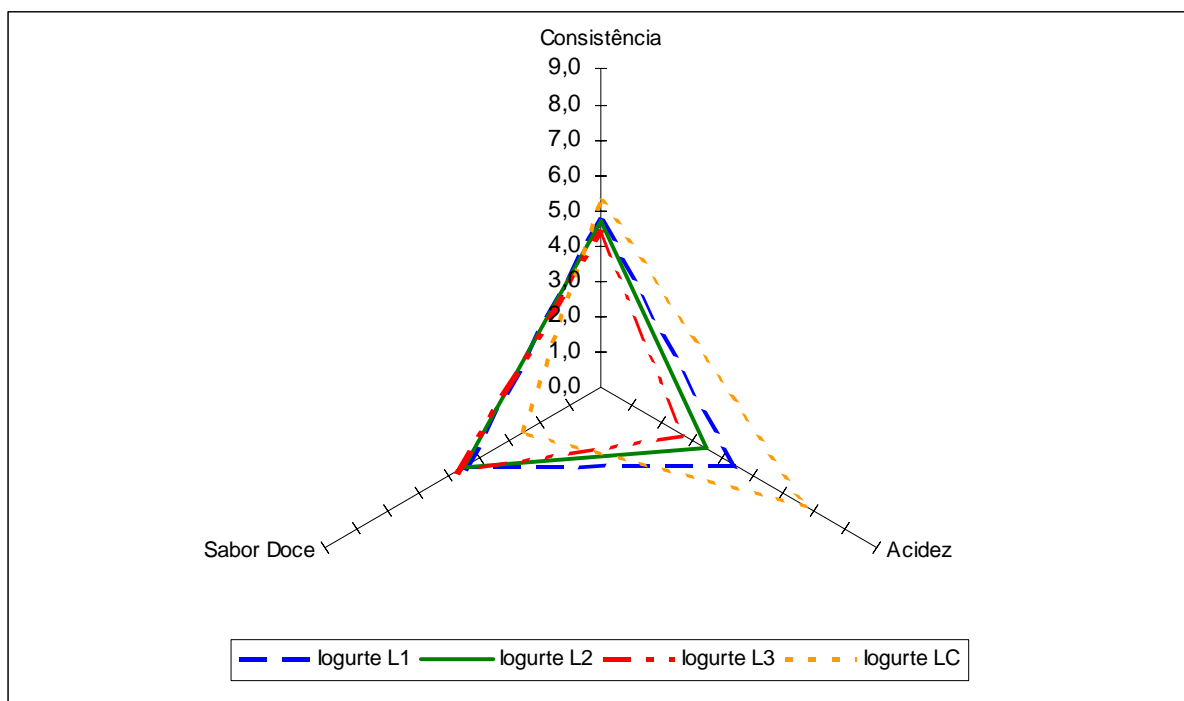
TABELA 4.5 – MÉDIAS OBTIDAS NA AVALIAÇÃO SENSORIAL DA CONSISTÊNCIA, ACIDEZ E SABOR DOCE DOS IOGURTES

Produto	Consistência	Acidez *	Sabor Doce *
logurte L1	4,7 ^a	4,4 ^b	4,5 ^a
logurte L2	4,7 ^a	3,5 ^b	4,5 ^a
logurte L3	4,3 ^a	2,7 ^b	4,7 ^a
logurte LC	5,2 ^a	6,7 ^a	2,5 ^b

* Os valores com letras iguais, na mesma coluna, não diferiram estatisticamente entre si ao nível de 5% de significância.

A Figura 4.5 ilustra uma representação gráfica dos resultados obtidos no teste de ADQ dos iogurtes com baixo teor de lactose e com teor de lactose normal. O centro da figura representa o ponto zero da escala e a intensidade aumenta do centro para a extremidade. O valor médio obtido por amostra para cada atributo é marcado no eixo correspondente, onde o perfil sensorial de cada iogurte é traçado pela conexão dos pontos.

FIGURA 4.5 – COMPARAÇÃO DOS ATRIBUTOS SENSORIAIS DOS IOGURTES COM BAIXO TEOR DE LACTOSE E COM TEOR DE LACTOSE NORMAL



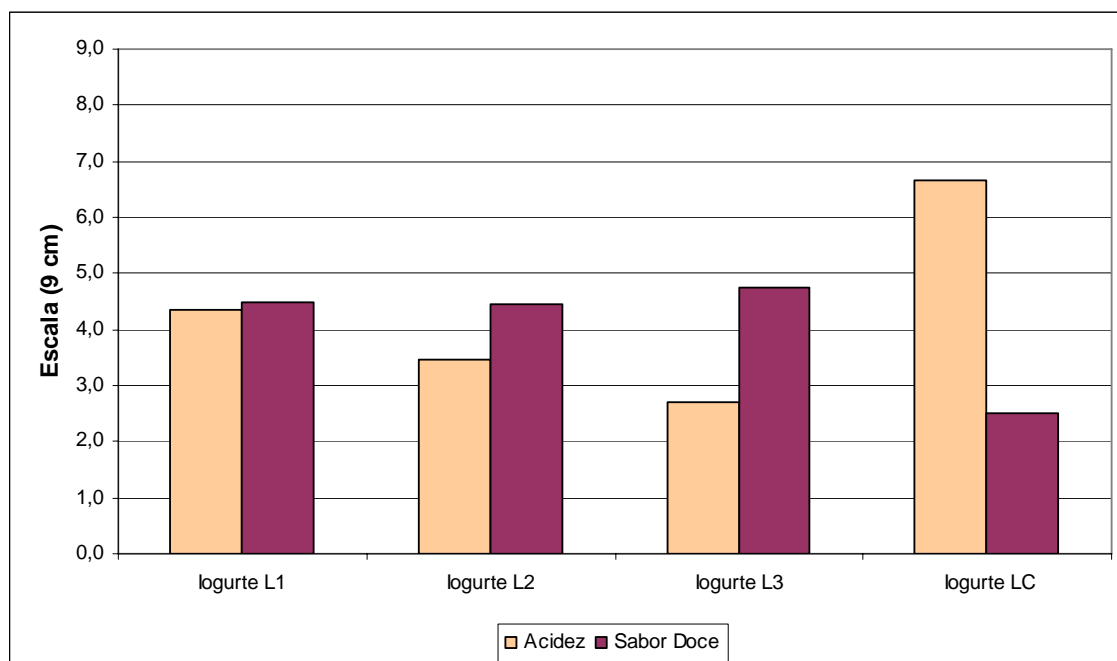
A análise de variância dos dados dos atributos sensoriais para os iogurtes com baixo teor de lactose e com teor de lactose normal mostrou que não houve diferença significativa ($p = 0,8509$) entre as amostras para o atributo consistência. Esse resultado é igual ao obtido por CEZAR *et al.* (2005), no entanto é diferente do obtido por PEREIRA (2002), que constatou que o iogurte, produzido com leite no

qual foi retirada parte da lactose, apresentou-se menos consistente que o iogurte produzido com leite com teor de lactose normal.

A semelhança na consistência dos iogurtes com teor de lactose reduzida enzimaticamente e com teor de lactose normal ocorre porque a hidrólise da lactose promove um pequeno aumento da viscosidade (lactose 342 g/mol, solução de glicose e galactose 360 g/mol) (KOCIÁN, 1988). Isso foi verificado por LONGO e WASZCZYNSKYJ (2005) na comparação sensorial de leite UHT, na qual o leite com baixo teor de lactose apresentou textura significativamente mais espessa que o leite com teor de lactose normal.

Houve diferença estatística para os atributos acidez ($p < 0,0001$) e sabor doce ($p = 0,0195$). O iogurte LC apresentou acidez significativamente maior que os iogurtes L1, L2 e L3. O oposto ocorreu com o atributo sabor doce, sendo que o iogurte controle apresentou sabor doce significativamente menor que os iogurtes com baixo teor de lactose. Essa relação pode ser observada na Figura 4.6.

Os resultados do atributo acidez são parecidos com os obtidos por PEREIRA (2002). Se for feita uma comparação entre os dados de acidez apresentados na Tabela 4.4, obtidos no 7º dia de estocagem, e os dados apresentados na Tabela 4.5, obtidos na avaliação sensorial, é possível observar que o iogurte LC diferiu significativamente dos iogurtes L2 e L3, que apresentaram baixa acidez, tanto na determinação físico-química como na análise sensorial. Porém, correlacionando a determinação físico-química da acidez (% ácido láctico) com o resultado sensorial do atributo acidez (escala de 9cm), não foi possível obter um alto grau de correlação ($R^2 = 0,6694$).

FIGURA 4.6 – RELAÇÃO ENTRE OS ATRIBUTOS ACIDEZ E SABOR DOCE DOS IOGURTES

Os resultados obtidos no atributo sabor doce para iogurtes estão de acordo com a literatura (ANDRADE; BRANDÃO; ALVIM, 2004; GIST-BROCADES, 2004) e com os resultados encontrados por LONGO e WASZCZYNSKYJ (2005), que observaram que o leite UHT com baixo teor de lactose apresentou sabor doce mais intenso que o leite UHT com teor de lactose normal. Segundo KOCIÁN (1988), a adição de lactase ao leite resulta em um produto 22% mais doce que o leite original (devido à hidrólise em glicose e galactose).

4.6.2 – Teste de Preferência

A Tabela 4.6 apresenta as médias obtidas para a percepção global das características dos iogurtes.

TABELA 4.6 – MÉDIAS OBTIDAS NO TESTE DE PREFERÊNCIA DA PERCEPÇÃO GLOBAL DAS CARACTERÍSTICAS DOS IOGURTES

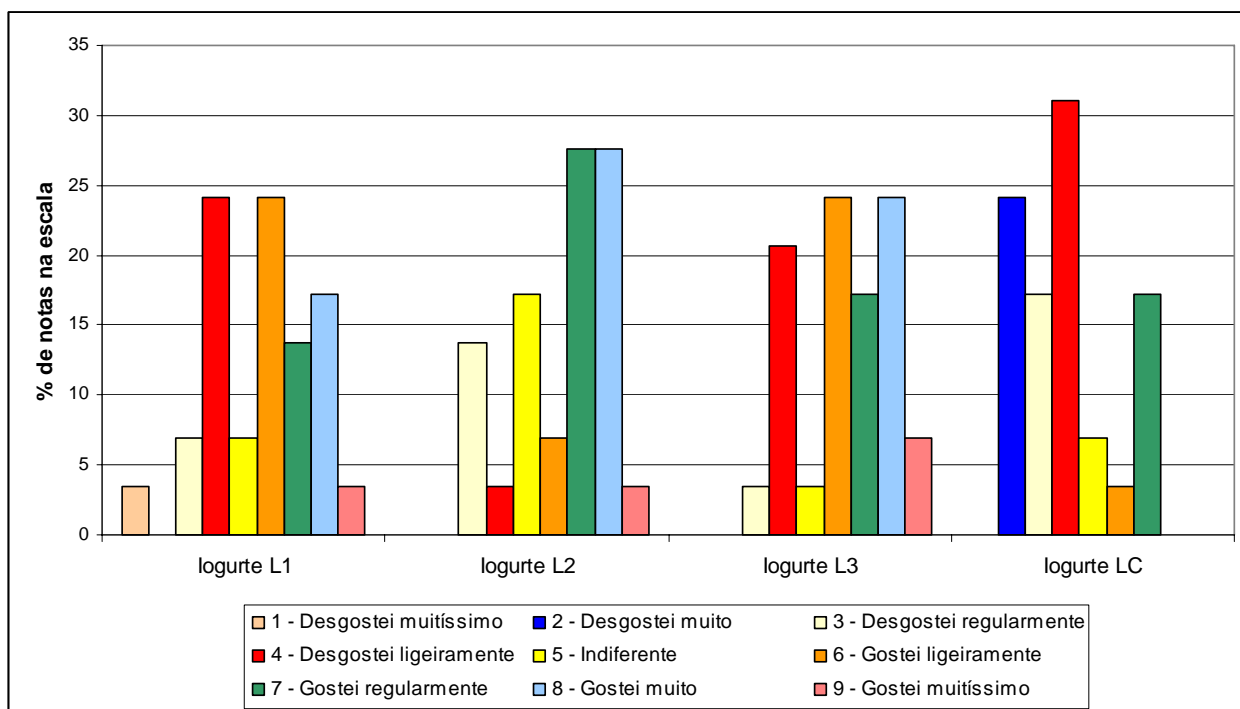
Produto	Média *
iogurte L1	5,7 ^a
iogurte L2	6,3 ^a
iogurte L3	6,3 ^a
iogurte LC	4,0 ^b

* Os valores com letras iguais, na mesma coluna, não diferiram estatisticamente entre si ao nível de 5% de significância

Observa-se que o iogurte com menor média de preferência foi o controle (LC), que apresentou diferença significativa ($p < 0,0001$) de todos os outros iogurtes, os quais não diferiram entre si. Esses resultados são diferentes dos obtidos por PEREIRA (2002) e por CEZAR *et al.* (2005), pois em ambos os estudos os iogurtes com teor de lactose normal obtiveram um melhor desempenho que os produzidos com baixo teor de lactose quanto aos atributos avaliados em cada estudo e quanto à preferência dos produtos. Porém essa diferença observada nos resultados obtidos nos diferentes trabalhos depende não só do produto que está sendo avaliado, mas também da equipe selecionada.

MANAN, KARIM e KIT (1999) realizaram a avaliação sensorial de “dadih”, uma sobremesa láctea típica da região norte da Península da Malásia, normal e com lactose hidrolisada enzimaticamente. Os resultados mostraram que ambas as amostras apresentaram o mesmo índice de aceitação.

A distribuição das notas do teste de preferência dos iogurtes utilizando-se escala hedônica de nove pontos é apresentada na Figura 4.7.

FIGURA 4.7 – HISTOGRAMA DA FREQUÊNCIA DAS NOTAS DO TESTE DE PREFERÊNCIA

Apesar dos iogurtes L1, L2 e L3, com baixo teor de lactose, não apresentarem diferenças significativas de preferência entre si, na Figura 4.7 observa-se que o iogurte L2 recebeu maior frequência de notas entre “7 – gostei regularmente” e “8 – gostei muito”. O iogurte L3 recebeu mais notas “6 – gostei ligeiramente” e “8 – gostei muito”, enquanto que o iogurte L1 recebeu maior frequência de notas “4 – desgostei ligeiramente” e “6 – gostei ligeiramente”. Para o iogurte LC houve uma porcentagem alta de notas “4 – desgostei ligeiramente”, sendo o menos preferido.

A Tabela 4.7 apresenta o resultado da preferência dos iogurtes pelos julgadores.

TABELA 4.7 – PORCENTAGEM DE PREFERÊNCIA DOS PRODUTOS

iogurtes	L1	L2	L3	L1/L2 *	L2/L3 **	LC
Preferência (%)	20,69	24,14	24,14	6,90	13,79	10,34
Total da preferência	89,66%					10,34%

* Julgadores que não fizeram distinção de preferência entre os iogurtes L1 e L2

** Julgadores que não fizeram distinção de preferência entre os iogurtes L2 e L3

Os resultados mostraram que a adição de lactase ao iogurte influenciou positivamente na preferência, sendo que 89,66% dos julgadores escolheram um dos três iogurtes como o preferido. Resultado diferente foi obtido por PEREIRA (2002), quando 82,5% dos julgadores preferiram os iogurtes com teor de lactose normal. Assim, pode-se afirmar que o iogurte cujo teor de lactose tenha sido reduzido enzimaticamente pode ter uma boa aceitabilidade no mercado consumidor.

A Associação Brasileira de Leite Longa Vida (ABLV, 2005) relatou que o leite com lactose reduzida não tem sido preferido apenas por aqueles que possuem intolerância à lactose. O sabor mais adocicado gerado pela quebra da lactose em glicose e galactose acaba atraindo outros consumidores. Por meio deste estudo o mesmo pôde ser constatado para iogurte com baixo teor de lactose, pois esses produtos apresentaram menor grau de acidez e maior percepção de sabor doce, o que acabou fazendo com que o produto apresentasse características de suavidade, como foi relatado pelos julgadores.

5. CONCLUSÕES

Com base no estudo realizado é possível concluir que a adição de lactase influenciou positivamente a acidificação de iogurtes, reduzindo o teor de lactose e possibilitando, assim, um produto que atenda as necessidades das pessoas que possuem intolerância à lactose.

A fermentação convencional reduziu em 10,22% o teor de lactose do iogurte quando comparado ao teor de lactose do leite. Essa redução é considerada baixa, pois ainda pode causar desconforto para as pessoas que possuem intolerância à lactose.

A construção da curva padrão de hidrólise da lactose do leite mostrou que existem altos graus de correlação entre a concentração de enzima lactase utilizada e a porcentagem de hidrólise alcançada ($R^2 = 0,9953$) e entre o tempo de reação e a porcentagem de hidrólise da lactose ($R^2 = 0,9859$).

A concentração de 0,8g/L de lactase adicionada ao leite pasteurizado a 40°C por 4 horas promoveu 88,07% de hidrólise, sendo a concentração escolhida para o estudo da influência da adição de lactase na produção de iogurtes.

A adição de lactase na acidificação de iogurtes não influenciou o teor de acidez no final da fermentação, mas afetou significativamente o tempo de fermentação, que aumentou em aproximadamente 15%.

O pH diminuiu e a acidez aumentou significativamente durante o período de 12 dias de estocagem para todos os produtos obtidos.

O iogurte sem a adição de lactase apresentou maior queda de pH e maior aumento de acidez, indicando que o uso da enzima oferece a vantagem de menor pós-acidificação dos iogurtes.

Os métodos estudados para a adição de lactase na produção de iogurtes não mostraram diferenças significativas de tempo de fermentação, pós-acidificação e avaliação sensorial entre si.

O tratamento L2 (hidrólise da lactose a 40°C por 4 horas, com posterior fermentação) e o tratamento L3 (simultânea hidrólise e fermentação a 40°C) mostraram serem os métodos mais adequados para produção de iogurte com baixo teor de lactose, pois os produtos apresentaram-se dentro dos padrões exigidos pela legislação que regulamenta os alimentos para fins especiais, sendo que o tratamento L3 reduz em 4 horas o tempo de processamento.

Os iogurtes com baixo teor de lactose foram caracterizados sensorialmente por uma baixa percepção de acidez e um significativo aumento do sabor doce.

Os iogurtes com baixo teor de lactose apresentaram um alto índice de preferência (89,66%), sendo que os iogurtes obtidos pelos tratamentos L2 e L3 apresentaram maior porcentagem de notas entre “6 - gostei ligeiramente” e “8 - gostei muito”.

6. SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

- Estudar a adição de outras concentrações de lactase na produção de iogurtes.
- Estudar a influência da adição de lactase na contagem das bactérias lácticas viáveis no iogurte.
- Estudar a influência da adição de lactase na produção de outros derivados lácteos.

REFERÊNCIAS

ABLV. Associação Brasileira de Leite Longa Vida. **Leites especiais**. Disponível em: <<http://www.ablv.org.br/Index.cfm?fuseaction=longavida>> Acesso em: 25 jan. 2005.

ABNT – ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR 12806**: Análise sensorial dos alimentos e bebidas. Rio de Janeiro, 1993a. 8p.

ABNT – ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR 12995**: Teste triangular em análise dos alimentos e bebidas. Rio de Janeiro, 1993b. 5p.

ABNT – ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR 14140**: Alimentos e bebidas – teste de análise descritiva quantitativa (ADQ). Rio de Janeiro, 1998a. 5p.

ABNT – ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR 14141**: Escalas utilizadas em análise sensorial de alimentos e bebidas. Rio de Janeiro, 1998b. 3p.

ALBUQUERQUE, L. C. **O leite em suas mãos**, v. 3. Juiz de Fora: Concorde Editora Gráfica, 1997. 150p.

AMIOT, J. **Ciencia y tecnología de la leche**: principios y aplicaciones. Zaragoza: Acribia, 1991. 547p.

ANDRADE, V. T.; BRANDÃO, S. C. C.; ALVIM, T. C. Sorvete de doce de leite delactosado. In: XXI CONGRESSO NACIONAL DE LATICÍNIOS, 2004, Juiz de Fora. **Anais. Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, Juiz de Fora, v. 59, n. 339, p. 126-130, jul./ago. 2004.

ANUÁRIO MILKBIZZ. Anuário Milkbuzz 1999/2000. São Paulo: Milkbuzz, 1999. 408p.

AOAC. **Official methods of analysis of AOAC international**, 17 ed., v. 2. Gaithersburg, 2000.

BAKKEN, A. B.; HILL, C. G. JR.; AMUNDSON, C. A. Hydrolysis of lactose in skim milk by immobilized β -galactosidase (*Bacillus circulance*). **Biotechnology and Bioengineering**, v. 39, n. 4, p. 409-417, 1992.

BARRANTES, E.; TAMIME, A. Y.; SWORD, A. M.; MUIR, D. D.; KALÁB, M. The manufacture of set-type natural yoghurt containing different oils – 1. compositional quality, microbiological evaluation and sensory properties. **Int. Dairy Journal**, v. 6, p. 811-826, 1996.

BATAVO. **Leite Batavo Sensy baixa lactose**. 2004. 2p. Publicidade.

BEHMER, M. L. A. **Tecnologia do leite**: produção, industrialização e análise, 9 ed. São Paulo: Nobel, 1979. 322p.

BOBBIO, F. O.; BOBBIO, P. A. **Introdução à química de alimentos**, 2 ed. São Paulo: Varela, 1992a. 231p.

BOBBIO, P. A.; BOBBIO, F. O. **Química do Processamento de Alimentos**, 2 ed. São Paulo: Varela, 1992b. 151p.

BONNAS, D. S. **Bioquímica dos alimentos**, v. 2. Escola Agrotécnica Federal de Uberlândia. Uberlândia: Apostila de Bioquímica, parte 2, 2003. Disponível em: <<http://www.eafudi.gov.br/eaf/Mural/Download/Agroind/deborah/apostbioqII.doc>>. Acesso em: 15 jun. 2004.

BRASIL. Ministério da Saúde. Portaria nº. 29. Regulamento técnico referente a alimentos para fins especiais. **Diário Oficial da União**, Brasília, 13 jan. 1998.

BRASIL. Ministério da Agricultura. Secretaria Nacional de Defesa Agropecuária. Departamento de Inspeção de Produtos de Origem Animal. Resolução nº. 5. Padrões de identidade e qualidade de leites fermentados. **Diário Oficial da União**, Brasília, 13 nov. 2000.

BRASIL. Ministério de Estado da Agricultura e do Abastecimento. Instrução Normativa nº. 51. Regulamentos técnicos de produção, identidade e qualidade do leite tipo A, do leite tipo B, do leite tipo C, do leite pasteurizado e do leite cru refrigerado e regulamento técnico da coleta de leite cru refrigerado e seu transporte a granel. **Diário Oficial da União**, Brasília, 18 set. 2002.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº. 22. Métodos analíticos oficiais físico-químicos para controle de leite e produtos lácteos. **Diário Oficial da União**, Brasília, 14 abr. 2003a.

BRASIL. Ministério da Saúde. Resolução RDC nº. 348. Utilização de enzimas na indústria de alimentos. **Diário Oficial da União**, Brasília, 02 dez. 2003b.

CARMINATTI, C. A. **Ensaio de hidrólise enzimática da lactose em reator a membrana utilizando beta-galactosidase *Kluyveromyces lactis***. 2001. 79p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) – Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis – SC.

CARNEIRO, J. C. S.; MINIM, V. P. R.; SOUZA JR, M. M.; CARNEIRO, J. E. S.; ARAÚJO, G. A. A. Sensory profile and acceptability of cultivars of beans (*Phaseolus vulgaris* L.). **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, v. 25, n. 1, p. 18-24, Jan./Mar. 2005.

CEZAR, F. M.; FARIÑA, L. O.; DRUNKLER, D. A.; COSTA, M. C. D. Desenvolvimento de iogurte com lactose reduzida para pacientes intolerantes por meio da fermentação e adição de lactase. In: XXII CONGRESSO NACIONAL DE LATICÍNIOS, 2005, Juiz de Fora. **Anais. Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, Juiz de Fora, v. 60, n. 345, p. 29-38, jul./ago. 2005.

COMMITTEE ON SENSORY EVALUATION OF THE INSTITUTE OF FOOD TECHNOLOGISTS. Sensory testing guide for panel evaluation of foods and beverages. **Food Technology**, Chicago, v. 18, n. 8, p. 25-31, Aug. 1964.

CUNHA, L. R.; SILVA, C. B.; COCCATI, S. M.; GERALDINE, R. M.; SOARES, N. F. F.; MELO, N. R. Embalagem ativa para a fabricação de leite delactosado. In: XXII CONGRESSO NACIONAL DE LATICÍNIOS, 2005, Juiz de Fora. **Anais. Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, Juiz de Fora, v. 60, n. 345, p. 45-48, jul./ago. 2005.

DELLA TORRE, J. C. M.; RODAS, M. A. B.; BADOLATO, G. G.; TADINI, C. C. Sensory evaluation and consumer test of minimally processed orange juice. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, v. 23, n. 2, p. 105-111, May/Aug. 2003.

DISTLER, J. J.; JOURDIAN, G. W. The purification and properties of β -galactosidase from bovine testes. **The Journal of Biological Chemistry**, v. 248, n. 19, p. 6772-6780, 1973.

DURING, M. J.; XU, R.; YOUNG, D.; KAPLITT, M. G.; SHERWIN, R. S.; LEONE, P. Peroral gene therapy of lactose intolerance using an adeno-associated virus vector. **Nature Medicine**, v. 4, p.1131-1135, 1998.

DUTCOSKY, S. D. **Análise sensorial de alimentos**. Curitiba: Champagnat, 1996. 123p.

EMBRAPA. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Estatísticas de consumo. **Agência de Informação Agronegócio do Leite**. Disponível em: <<http://www.agencia.cnptia.embrapa.br>>. Acesso em: 30 nov. 2005.

EVANGELISTA, José. **Tecnologia de alimentos**, 2 ed. São Paulo: Atheneu, 1998. 652p.

FERREIRA, C. L. L. F. **Produtos lácteos fermentados**: aspectos bioquímicos e tecnológicos. Viçosa: Imprensa Universitária – Universidade Federal de Viçosa, 1996. 96p.

FERREIRA, C. L. L. F. Valor nutritivo e bioterapêutico de leites fermentados. In: LERAYER, A. L. S.; SALVA, T. J. G. **Leites fermentados e bebidas lácteas**: tecnologia e mercado. Campinas: ITAL, 1997, cap. 1, p. 1-7.

FERRONATO, D. D. Z.; FARINÃ, L. O.; JORGE, A. S.; COSTA, M. C. D. Avaliação dos teores de lactose em iogurtes e leites fermentados produzidos no Paraná como subsídio para orientação nutricional de pacientes com intolerância à lactose. In: XXI CONGRESSO NACIONAL DE LATICÍNIOS, 2004, Juiz de Fora. **Anais. Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, Juiz de Fora, v. 59, n. 339, p. 156-159, jul./ago. 2004.

GALVÃO, L. C.; FERNANDES, M. I. M.; SAWAMURA, R. Conteúdo de lactose e atividade de β -galactosidase em iogurtes, queijos e coalhadas produzidos no Brasil. **Arquivos de Gastroenterologia**, v. 32, n. 1, p. 8-14, 1995.

GIST-BROCADES, Dairy Ingredients Group. Maxilact: the dairy yeast lactase. In: **Biotechnology contributing to food, health and the environment**. The Netherlands: Gist-Brocades BSD B.V., 2004. 12p.

GONZÁLEZ, S. Alimentos lácticos probióticos. In: LERAYER, A. L. S.; SALVA, T. J. G. **Leites fermentados e bebidas lácteas**: tecnologia e mercado. Campinas: ITAL, 1997, cap. 10, p. 1-6.

GOURSAUD, J. O leite de vaca: composição e propriedades físico-químicas. In: LUQUET, F. M. **O leite**: do úbere à fábrica de laticínios. Portugal: Publicações Europa-America Lda, 1985, v.1, parte 1, cap. 1, p. 31-56.

GOURSAUD, J. La leche de vaca: composición y propiedades fisico-químicas. In: LUQUET, F. M. **Leche y productos lácteos**: la leche de la mama a la lechería. Zaragoza: Acribia, 1991, v. 1, parte 1, cap. 1, p. 3-92.

HOLSINGER, V. H.; KILGERMAN, K. H. Application of lactose in dairy foods and other foods containing lactose. **Food Technology**, v. 45, n. 1, p. 94-95, 1991.

IAL. Instituto Adolfo Lutz. **Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz**, v.1. São Paulo: O Instituto, 1985. 533p.

JELEN, P. Reprocessing of whey and other dairy wastes for use as food ingredients. **Food Technology**, v. 37, n. 2, p. 81-84, Feb. 1983.

KARDEL, G.; ANTUNES, L. A. F. Culturas lácticas e probióticas empregadas na fabricação de leites fermentados: leites fermentados. In: LERAYER, A. L. S.; SALVA, T. J. G. **Leites fermentados e bebidas lácteas**: tecnologia e mercado. Campinas: ITAL, 1997, cap. 2, p. 26-33.

KIRKPATRICK, K. J.; FENWICK, R. M. Manufacture and general properties of dairy ingredients. **Food Technology**, v. 41, n. 10, p. 58-65, Oct. 1987.

KOCIÁN, J. Lactose intolerance – minireview. **International Journal Biochemistry**, v. 20, n. 1, p.1-5, 1988.

KOEHLER, H. S. **Estatística experimental**. Curitiba: UFPR, Setor de Ciências Agrárias, 1999. 124p. Apostila digitada.

LACAZ-RUIZ, R. Um dos problemas do leite: lactose. **Jornal O movimento**, 06 jan. 2001. Ano LXVI, n. 4925, p. A2.

LACTOSE. In: BUDAVARI, S. (Ed.). **The Merck Index**: an encyclopedia of chemicals, drugs and biologicals, 12 ed. Merck: Research Laboratories Division of MERCK & CO, 1996. p. 912.

LADERO, M.; SANTOS, A.; GARCÍA-OCHOA, F. Kinetic modeling of lactose hydrolysis by a β -galactosidase from *Kluyveromyces fragilis*. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 27, p. 583-592, 2000.

LONGO, G.; RAPACCI, M.; CARRARO, C. N. M.; EFING, L. C.; VEIGA, D. R. **Estudo das alterações provocadas na produção de iogurte com leite com altas contagens de células somáticas**. 2001. 34p. Projeto de Iniciação Científica PIBIC/CNPq/PUC-PR – Pontifícia Universidade Católica do Paraná, Curitiba – PR.

LONGO, G.; WASZCZYNSKYJ, N. Avaliação sensorial de leite UHT com baixo teor de lactose. In: XXII CONGRESSO NACIONAL DE LATICÍNIOS, 2005, Juiz de Fora. **Anais. Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, Juiz de Fora, v. 60, n. 345, p. 77-80, jul./ago. 2005.

MACEDO, N. L. T. **Leites fermentados**: iogurtes e bebidas lácteas. Juiz de Fora: EPAMIG/CT/ILCT, 2003. 1 CD-ROM.

MANAN, D. M. A.; KARIM, A. A.; KIT, W. K. Lactose content of modified enzyme-treated 'dadih'. **Food Chemistry**, n. 65, p. 439-443, 1999.

MICHIGAN STATE UNIVERSITY, **MSTATC**, versão 2.10, East Lansing, MI, 1989. 1 disquete 3½, MSDOS.

MOREIRA, S. R.; SCHWAN, R. F.; CARVALHO, E. P.; FERREIRA, C. Microbiological and chemical analysis of yoghurts marketed in Lavras – MG. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, v. 19, n. 1, p. 147-152. Jan./Apr. 1999.

MORIWAKI, C.; MATIOLI, G. Influência de β -galactosidase na tecnologia do leite e na má digestão da lactose. **Arq. Ciênc. Saúde Unipar**, v. 4, n. 3, p. 283-290, set./dez. 2000.

OBÓN, J. M.; CASTELLAR, M. R.; IBORRA, J. L.; MANJÓN, A. β -Galactosidase immobilization for milk lactose hydrolysis: a simple experimental and modeling study of batch and continuous reactors. **Biochemical Education**, v. 28, p. 164-168, 2000.

OLIVEIRA, A. F. A. Qualidade e organização na produção de leites fermentados. In: LERAYER, A. L. S.; SALVA, T. J. G. **Leites fermentados e bebidas lácteas: tecnologia e mercado**. Campinas: ITAL, 1997, cap. 16, p. 1-14.

OLIVEIRA, C. A. F. Qualidade do leite no processamento de derivados. In: GERMANO, P. M.; GERMANO, M. I. S. **Higiene e vigilância sanitária de alimentos**, 2 ed. São Paulo: Livraria Varela, 2003, parte 5, p. 91-102.

PEREIRA, M. A. G. **Efeito do teor de lactose e do tipo de cultura na acidificação e pós-acidificação de iogurtes**. 2002. 86p. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas – SP.

PROZYN. **Prozyn Lactase**. São Paulo, 2004. 4p. Informação técnica.

RAPACCI, M. **Leites fermentados**. Curitiba: PUC-PR, Departamento de Engenharia de Alimentos, 1999. 29p. Apostila digitada.

RAPACCI, M. **Tecnologia de leite**. Curitiba: PUC-PR, Departamento de Engenharia de Alimentos, 2000. 43p. Apostila digitada.

RICHARD, H. Enzimologia e biocatálise. In: SCRIBAN, R. (Coord.). **Biotecnologia**. São Paulo: Manole, 1985. Parte 3: Engenharia enzimática, cap. 1, p. 179-207.

RODAS, M. A. B.; RODRIGUES, R. M. M. S.; SAKUMA, H.; TAVARES, L. Z.; SGARBI, C. R.; LOPES, W. C. C. Physico chemical, histological and viability of lactic bacteria in yogurts containing fruit. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, v. 21, n. 3, p. 304-309, Sept./Dec. 2001.

RODRIGUES, F. C. **Lácteos especiais**. Juiz de Fora: Concorde Editora Gráfica, 1999. 151p.

SANTOS, A.; LADERO, M.; GARCÍA-OCHOA, F. Kinetic modeling of lactose hydrolysis by a β -galactosidase from *Kluyveromyces fragilis*. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 22, p. 558-567, 1998.

SCRIBAN, R. (Coord.). **Biotecnologia**. São Paulo: Manole, 1985. 489p.

SHAH, N. P.; FEDORAK, R.N.; JELEN, P. J. Food consistency effects of quarg in lactose malabsorption. **International Dairy Journal**, n. 2, p. 257-269, 1992.

SILVA, P. H. F.; PEREIRA, D. B. C.; OLIVEIRA, L. L.; COSTA JÚNIOR, L. C. G. **Físico-química do leite e derivados: métodos analíticos**. Juiz de Fora: Oficina de Impressão Gráfica e Editora Ltda., 1997. 190p.

SOROA, J. M. **Indústrias lácteas**, 5 ed. Lisboa: Litexa, 1980. 376p.

SPREER, E. **Lactología industrial**: leche, preparación y elaboración, máquinas, instalaciones y aparatos, productos lácteos. 2 ed. Zaragoza: Acribia, 1991. 617p.

SUENAGA, C. I.; SIU, E. R.; KATO L. M.; OSAKO, M. K. **Intolerância à lactose**. UNIFESP: Escola Paulista de Medicina. Disponível em: <<http://www.virtual.epm.br/material/tis/curr-bio/trab2001/grupo1/intolerancia.htm>>. Acesso em: 04 ago. 2003.

SWAGERTY, D. L.; WALLING, A. D.; KLEIN, R. M. Lactose intolerance. **American Family Physician**, v. 65, n. 9, p. 1845-1849, May 2002.

TAMIME, A. Iogurtes com alto teor de sólidos. In: LERAYER, A. L. S.; SALVA, T. J. G. **Leites fermentados e bebidas lácteas: tecnologia e mercado**. Campinas: ITAL, 1997, cap. 8, p. 1-25.

TEIXEIRA, A. C. P.; MOURTHÉ, K.; ALEXANDRE, D. P.; SOUZA, M. R.; PENNA, C. F. A. M. Qualidade do iogurte comercializado em Belo Horizonte. **Leite & Derivados**, v. 9, n. 51, p. 32-37, 2000.

TÉO, C. R. P. A. Intolerância à lactose: uma breve revisão para o cuidado nutricional. **Arq. Ciênc. Saúde Unipar**, v. 6, n. 3, p. 135-140, set./dez. 2002.

TORRES, A. N. Benefícios e malefícios do uso do leite de vaca na alimentação humana. **Nutrição Brasil**, v. 3, n. 4, jul./ago. 2004.

VALSECHI, O. **Tecnologia de produtos agrícolas de origem animal**: o leite e seus derivados. Araras – SP: UFSCar, Centro de Ciências Agrárias, 2001. 36p. Apostila digitada.

VEISSEYRE, R. **Lactologia técnica**: composición, recogida, tratamiento y transformación de la leche. Zaragoza: Acribia, 1988. p. 288-291.

VESA, T. H.; MARTEAU, P.; KORPELA, R. Lactose intolerance. **Journal of the American College of Nutrition**, v. 19, n. 2, p. 165S-175S, 2000.

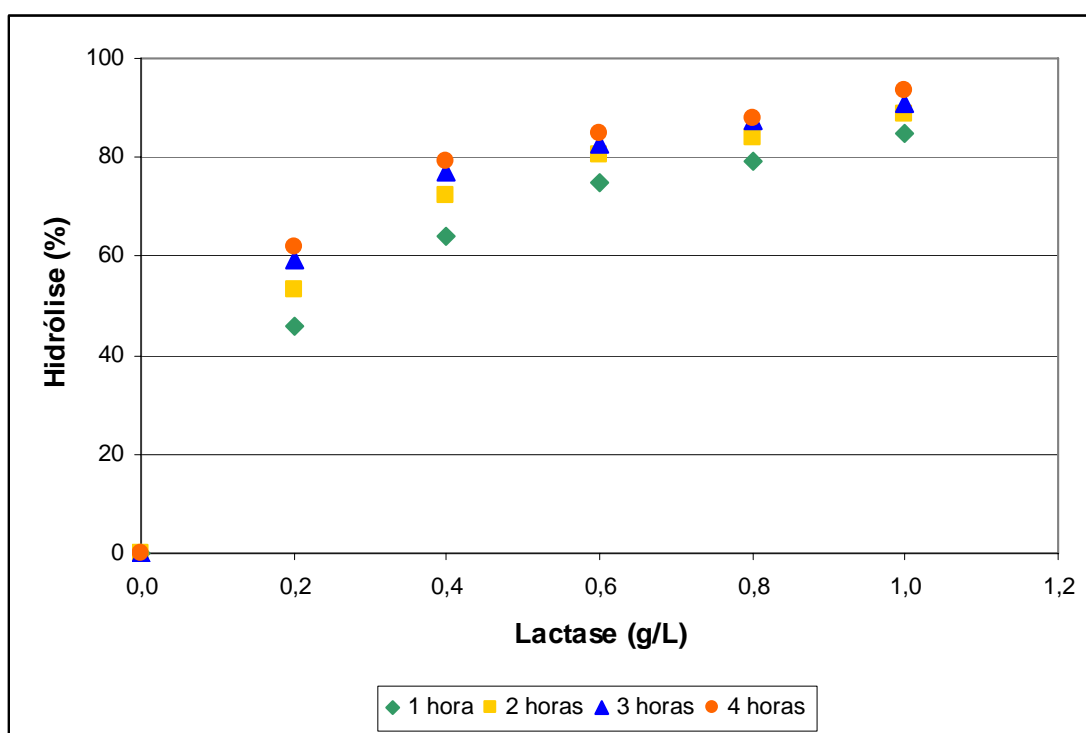
VINHAL, E. F. **Hidrólise da lactose no leite por beta-galactosidase de *Kluyveromyces fragilis***. 2001. 100p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) – Faculdade de Engenharia Química, Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia – MG.

VITOLO, M. Aplicações de enzimas na tecnologia de alimentos. In: AQUARONE, E. (Coord.). **Biotecnologia industrial**: biotecnologia na produção de alimentos. São Paulo: Edgard Blücher Ltda., 2001, v. 4, cap. 14, p. 387-420.

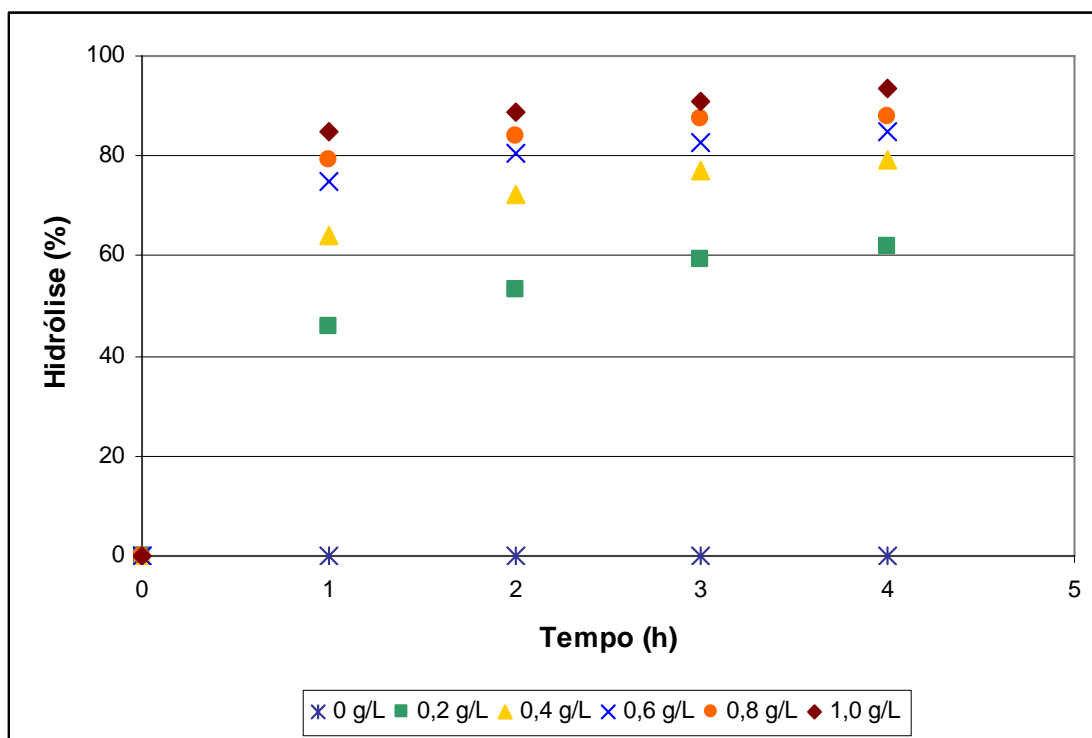
ZADOW, J. G. Lactose – properties and uses. **Journal of dairy science**, v. 67, n. 11, p. 2654-2679, 1984.

APÊNDICES

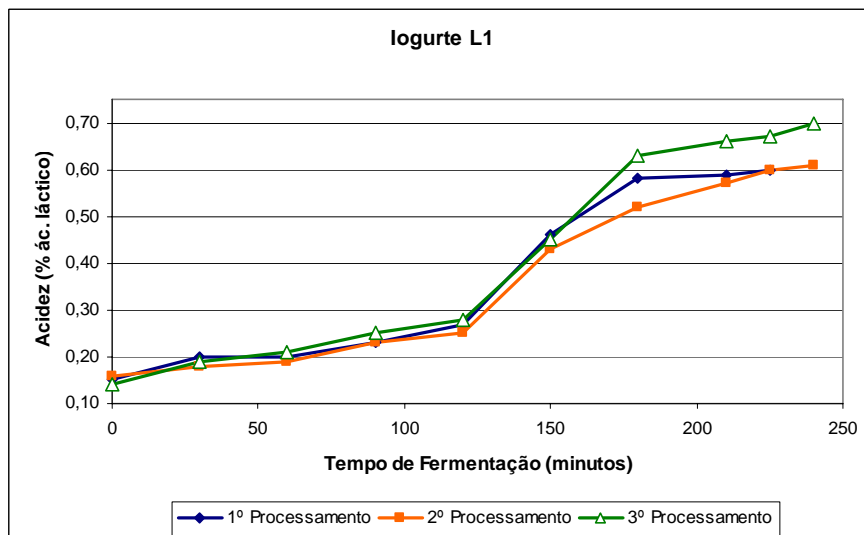
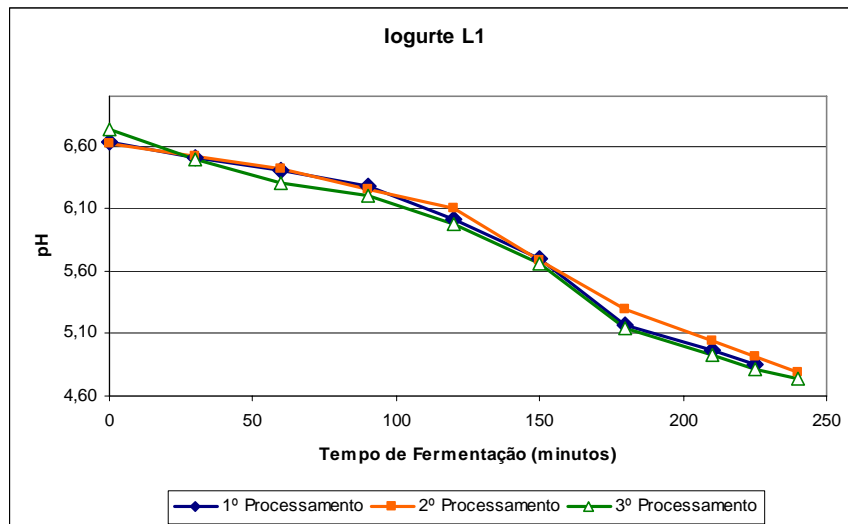
APÊNDICE 1 - PORCENTAGEM DE HIDRÓLISE DA LACTOSE EM LEITE PASTEURIZADO, NOS INTERVALOS DE TEMPO DE 1 HORA, EM FUNÇÃO DE DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE ENZIMA LACTASE



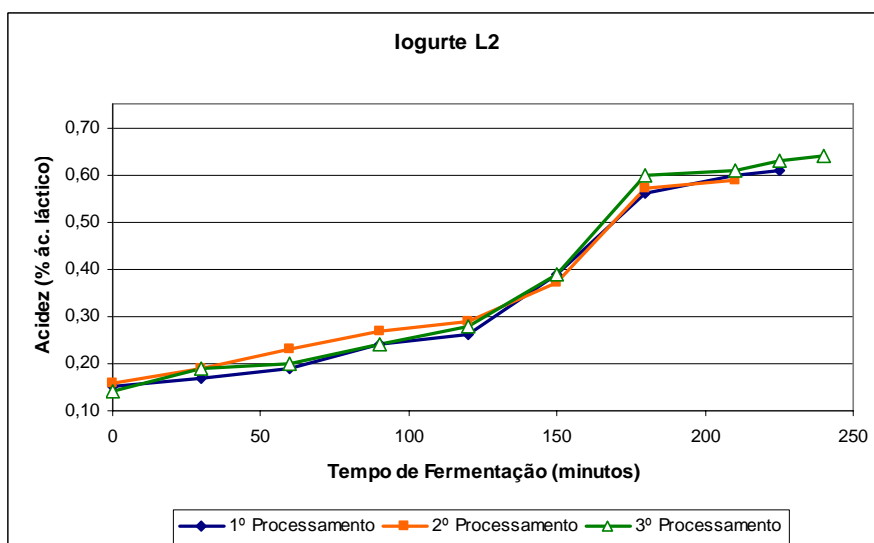
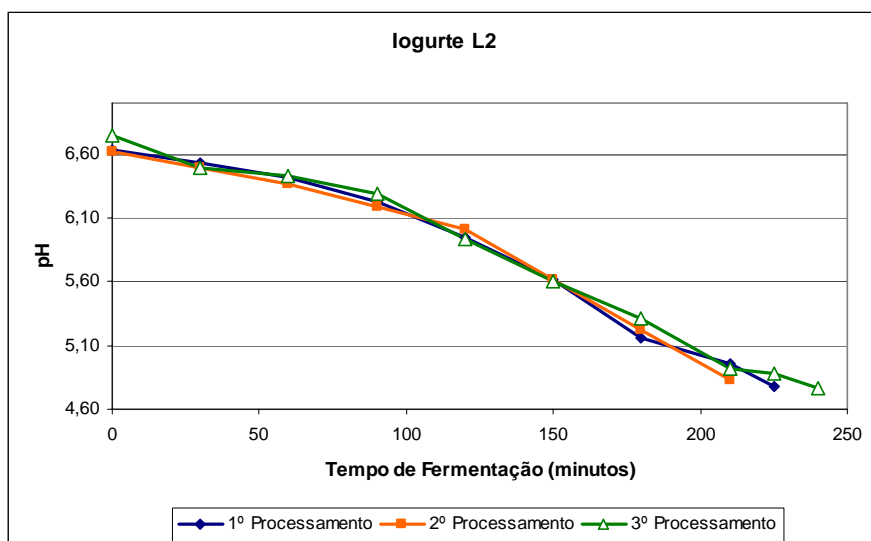
APÊNDICE 2 - PORCENTAGEM DE HIDRÓLISE DA LACTOSE EM LEITE PASTEURIZADO, PARA DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE LACTASE, EM FUNÇÃO DO TEMPO



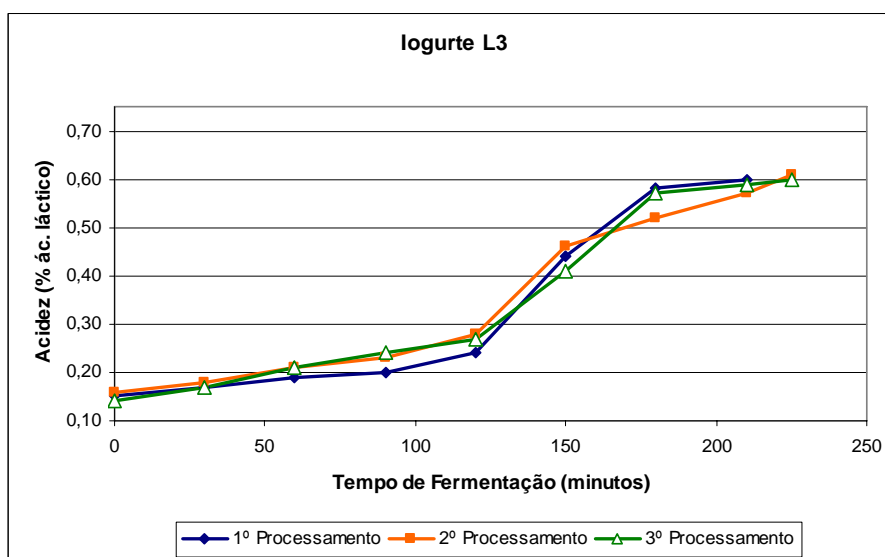
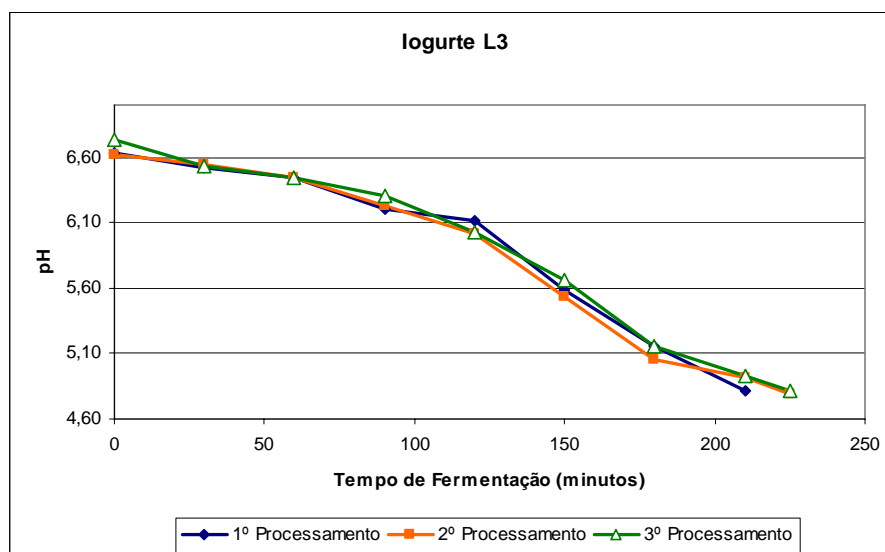
APÊNDICE 3 - CURVAS DE ACIDIFICAÇÃO DOS TRÊS PROCESSAMENTOS DE PRODUÇÃO DOS IOGURTES: (a) IOGURTE L1; (b) IOGURTE L2; (c) IOGURTE L3; (d) IOGURTE LC



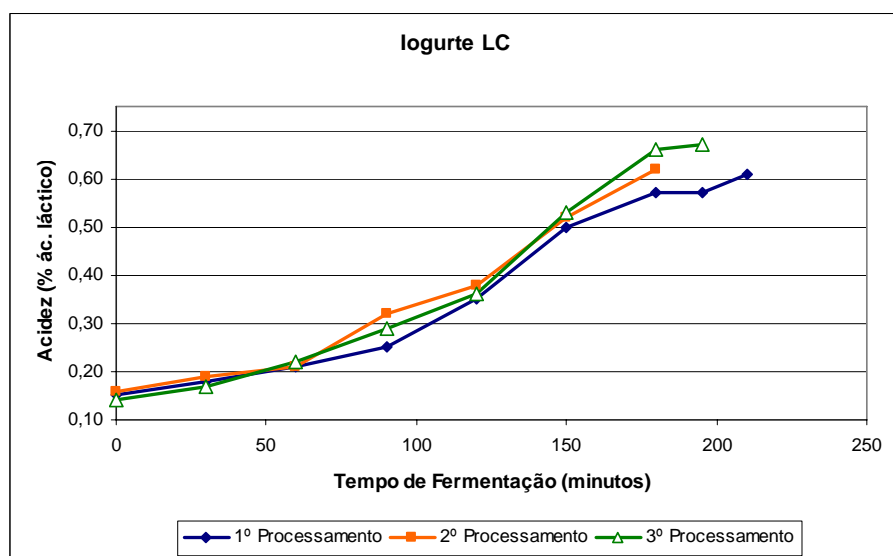
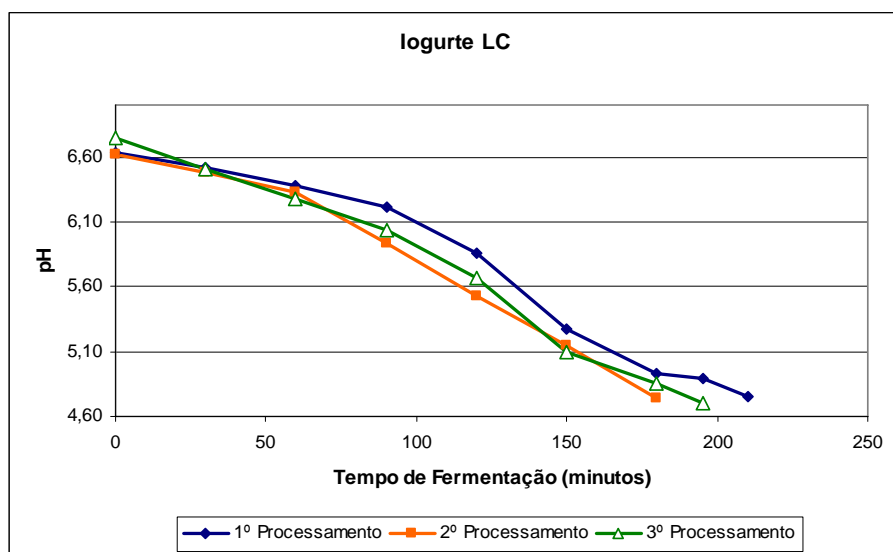
(a)



(b)



(c)



(d)

ANEXOS

ANEXO 1

INFORMAÇÕES TÉCNICAS DA CULTURA LÁCTICA
FD-DVS YF-FL811 – Yo-Flex, CHR. HANSEN

CHR. HANSEN

FD-DVS YF-L811 - Yo-Flex®

Product Information

Description	Thermophilic Yoghurt culture. Defined mixed strain culture containing <i>Streptococcus thermophilus</i> and <i>Lactobacillus delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i> blended in a convenient freeze-dried form to produce yoghurt.								
Application	YF-L811 will produce yoghurt with a very high body, very mild flavor and very low post acidification. The culture is ideal for manufacturing the following types of very mild yoghurt: <ul style="list-style-type: none"> • Stirred • Set • Drinking 								
Packing	<table> <tr> <th>Packing size</th><th>Item number</th></tr> <tr> <td>10x50U</td><td>667295</td></tr> <tr> <td>25x200U</td><td>667330</td></tr> <tr> <td>20x500U</td><td>667331</td></tr> </table>	Packing size	Item number	10x50U	667295	25x200U	667330	20x500U	667331
Packing size	Item number								
10x50U	667295								
25x200U	667330								
20x500U	667331								
Storage and shelf life	Freeze-dried cultures should be stored at -18°C (0°F) or below. If the cultures are stored at -18°C (0°F) or below, the shelf life is at least 24 months. At +5°C (41°F) the shelf life is at least 6 weeks.								
Instructions for use	Remove the cultures from the freezer just prior to use. DO NOT THAW THESE CULTURES. Sanitize the top of the pouch with chlorine. Open the pouch and pour the freeze-dried granules directly into the pasteurized product using slow agitation. Agitate the mixture for 10-15 minutes to distribute the culture evenly.								
Dosage	Recommended dosage of freeze-dried DVS cultures in units to liters:								

DVS inoculation rate	Amount of milk to be inoculated				
	250 l	1,000 l	5,000 l	10,000 l	15,000 l
500U/2500 l	50U	200U	1000U	2000U	3000U

KMH/FD-DVS YF-L811/June2003/1:2

Chr. Hansen A/S, 10-12 Bøge Allé, DK-2970 Hørsholm. Tel: +45 45 747474. Fax: +45 45 748813. Web: chr-hansen

FD-DVS YF-L811 - Yo-Flex®

Product Information

CHR. HANSEN

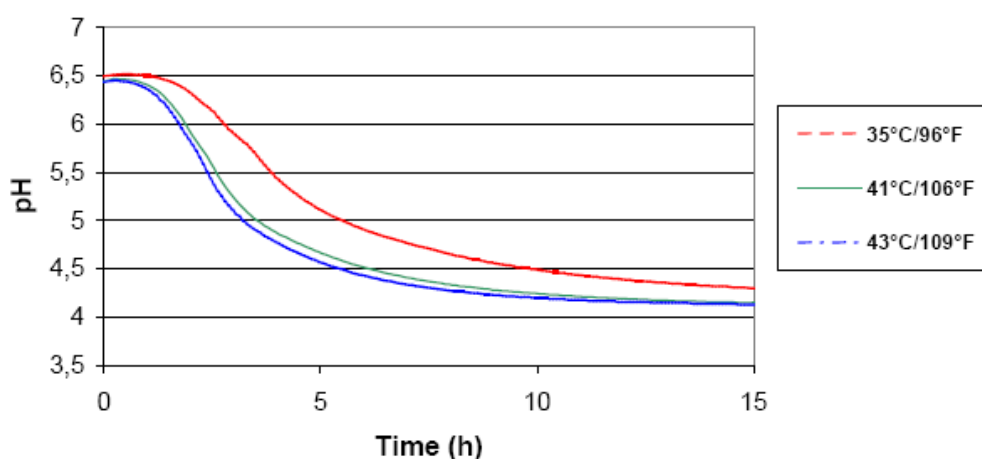
Incubation temperature Recommended incubation temperature is 35-45°C (95-113°F). For more information please use Chr. Hansen's suggested recipes.

Kosher status YF-L811 is Kosher approved (Circle K D) for year-round use, excluding Passover.

Technical information

Figure 1. The effect of temperature on acidification

FD-DVS YF-L811



Fermentation conditions:
Whole milk +2% skim milk powder (85°C (185°F)/30 min.)
Inoculation: 500U/2500 l

NB: Note that the accuracy of these curves is relative and subject to experimental error.

Technical service Chr. Hansen's worldwide facilities and the personnel of our Application and Technology Center are at your disposal with assistance, instructions and guidance for your choice of culture and rennet.

References

References and analytical methods are available upon request.

The information contained herein is to our knowledge true and correct and presented in good faith. However, no warranty, guarantee, or freedom from patent infringement is implied or inferred. This information is offered solely for your consideration and verification.

EN-FD-DVS YF-L811-PI-0603

ANEXO 2

INFORMAÇÕES TÉCNICAS DA ENZIMA LACTASE,
PROZYN[®]

Prozyn[®] Lactase



Leite com baixo teor de Lactose

DESCRIÇÃO

Prozyn[®] Lactase constituído da enzima lactase, obtida através da fermentação de uma cepa selecionada e específica de *Kluyveromyces lactis*.

Esta enzima age sobre a Lactose presente no leite, quebrando suas ligações e produzindo D-glicose e D-galactose, que são açúcares mais solúveis.

APLICAÇÃO

Prozyn[®] Lactase apresenta ótima aplicação em produtos lácteos como doce de leite e leite sem lactose ou com baixo teor de lactose.

No caso do doce de leite, **Prozyn[®] Lactase** minimiza os problemas de arenosidade. Isso porque a Lactose, a causa deste problema, é hidrolisada pela enzima.

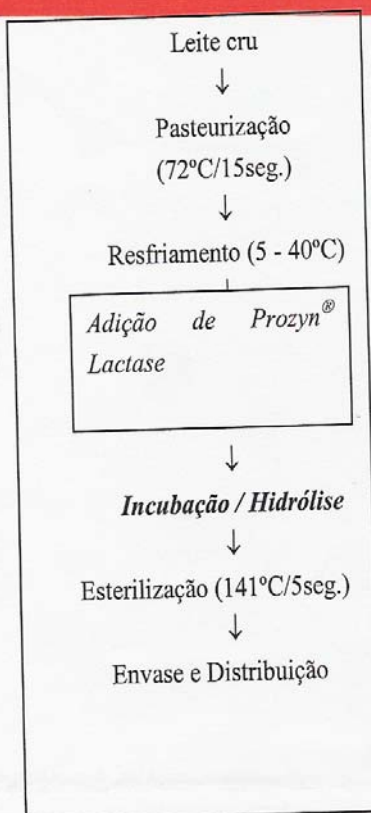
Prozyn[®] Lactase ainda pode ser utilizado na produção de leite sem lactose ou com baixo teor de Lactose, que pode ser consumido por pessoas intolerantes à lactose.

Intolerância à lactose é uma deficiência do organismo para digerir o açúcar do leite, chamado Lactose. Esse açúcar é composto por glicose e galactose. As pessoas que são intolerantes à lactose não produzem a enzima Lactase, que quebra a Lactose nessas duas frações, digeríveis pelo organismo. A Lactose não digerida é fermentada no intestino por bactérias, produzindo ácidos e gases (CO₂). Este fenômeno causa alguns sintomas como estufamento abdominal, produção de gases, flatulência, cólicas e diarreia.

A Intolerância à Lactose é um problema comum, atingindo mais de 75% da população mundial de acordo com o Instituto Nacional de Doenças Digestivas, Renais e Diabetes, (EUA) filiado ao Instituto Nacional de Saúde Americano; e pode aparecer em maior ou menor intensidade em função de alguns fatores, principalmente grupo étnico.

É importante salientar que intolerância a lactose não é a mesma coisa que alergia ao leite.

Na produção de leite “delactosado” é necessária a hidrólise da Lactose na quantidade mínima de 90%. Segue o fluxograma do processo com a adição da enzima **Prozyn[®] Lactase**:



Dose recomendada(g/100litros leite)	Tempo (h)	Temperatura (°C)
80	15	6
70	2	37
40	4	37

BENEFÍCIOS

Prozyn® Lactase promove diversos benefícios dependendo da aplicação:

- ✓ Produção de leite “delactosado”- sem lactose ou com baixo teor de lactose.
- ✓ Redução do tempo de hidrólise da Lactose do leite,



- ✓ Melhor estabilidade quando comparada a outras lactases, pois possui atividade de protease muito baixa,

CARACTERÍSTICAS

Prozyn® Lactase é um líquido de cor amarelada.

No caso de necessidade de controle do grau de hidrólise da Lactose, recomenda-se o uso da técnica de crioscopia. O cálculo final pode ser feito através da fórmula de abaixo:

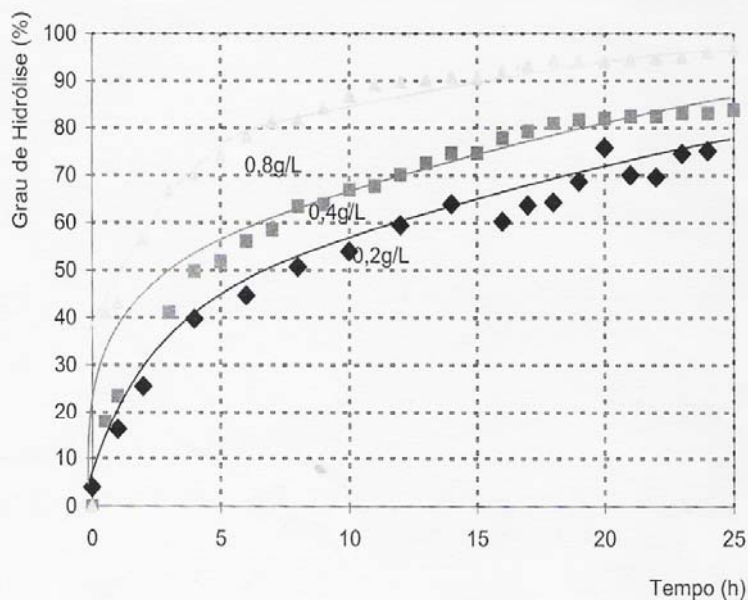
CORRELAÇÃO CRIOSCOPIA x % HIDRÓLISE

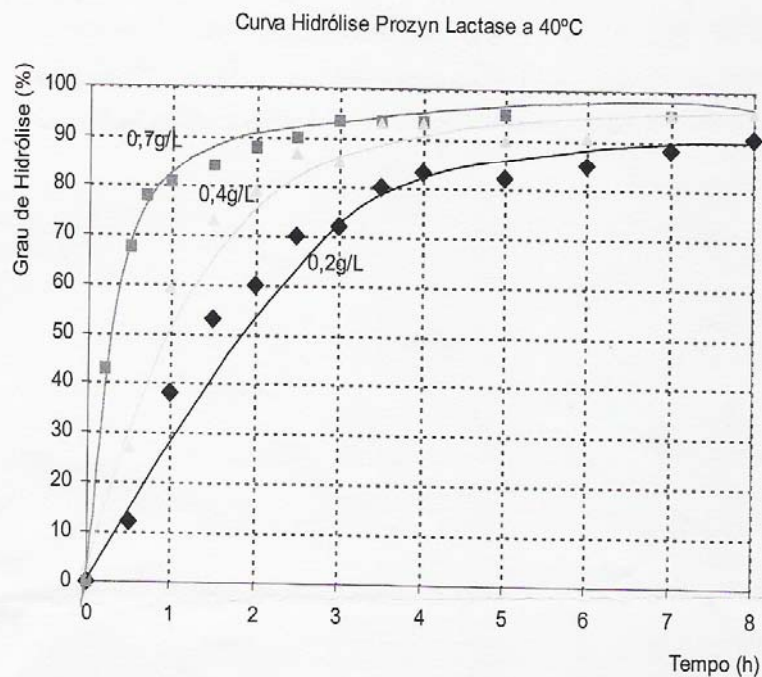
$$\text{Crioscopia} = 0,00285 \times (\% \text{ Hidrólise desejada}) + (\text{Crioscopia inicial})$$

$$\% \text{ Hidrólise alcançada} = \frac{350,877 \times (\text{Crioscopia final}) - (\text{Crioscopia inicial})}{0,00285}$$

A seguir encontram-se duas curvas de hidrólise da Lactose em diferentes condições de processo e dosagens.

Curva Hidrólise Prozyn Lactase a 6°C



**EMBALAGEM**

Prozyn® Lactase apresenta-se acondicionado em bombonas de 1, 5, 10 e 25kg. Para outras quantidades, entre em contato.

ESTOCAGEM

Prozyn® Lactase deve ser armazenado em local refrigerado.

CUIDADOS NO MANUSEIO

Em caso do contato de **Prozyn® Lactase** com a face e olhos aconselha-se lavar rapidamente com água corrente durante 15 minutos. Para maiores informações sobre como manipular este produto com segurança consulte a Ficha de Segurança.

ANEXO 3

CERTIFICADOS DAS ANÁLISES DE DETERMINAÇÃO DA
LACTOSE , CEPPA

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ**

SETOR DE TECNOLOGIA

CEPPA - CENTRO DE PESQUISA E PROCESSAMENTO DE ALIMENTOS

CENTRO POLITÉCNICO - PRÉDIO DAS USINAS PILOTO - BLOCO B - SALA PP01

CX. P. 19.063 - FONES: (41) 3366-3668 / 3361-3195 - FAX: (41) 3266-1647

e-mail: ceppa@ufpr.br - www.ceppa.ufpr.br - CEP 81531-990 - CURITIBA - PARANÁ

CERTIFICADO DE ANÁLISE Nº 88311

PRODUTO: IOGURTE – L1

FABRICANTE/PRODUTOR: Giovana Longo.

SOLICITANTE: O mesmo

ENDEREÇO: Centro Politécnico - Curitiba/PR

PROTOCOLO DE RECEPÇÃO DE AMOSTRA Nº 2016 – 21/11/05

AMOSTRA Nº 6173/05

RESULTADOS

01/01

Descrição do produto: amostra recebida refrigerada, acondicionada em 01 pote plástico opaco com volume aproximado de 86 mL.

PARÂMETROS FÍSICOS E QUÍMICOS

Lactose (g/100 g) 0,61

METODOLOGIA

AOAC. Official methods of analysis of AOAC international. 17.ed. Gaithersburg, 2000. 2 v. (Method 980.13).

Dados do ensaio:

Início: 28/11/05 Término: 30/11/05 Responsável: Eriel F. de Andrade.


Jeyson Moreira Train

Gerente Técnico

CRN 18833 – 3ª Região

/1

Curitiba, 01 de dezembro de 2005.


Margia Regina Beux
CRBio 04907-03D

Coordenadora do Laboratório

OBSERVAÇÃO: • A PRESENTE ANÁLISE TEM SEU VALOR RESTRITO A AMOSTRA RECEBIDA PELO CEPPA.

• AS INFORMAÇÕES CONSTANTES NESTE CERTIFICADO DE ANÁLISE SÃO CONFIDENCIAIS E PERTENCENTES AO SOLICITANTE.

• É PERMITIDA A REPRODUÇÃO, DESDE QUE INTEGRALMENTE E SEM NENHUMA ALTERAÇÃO.



UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
SETOR DE TECNOLOGIA
CEPPA - CENTRO DE PESQUISA E PROCESSAMENTO DE ALIMENTOS
CENTRO POLITÉCNICO - PRÉDIO DAS USINAS PILOTO - BLOCO B - SALA PP01
CX. P. 19.083 - FONES: (41) 3366-3668 / 3361-3195 - FAX: (41) 3266-1647
e-mail: ceppa@ufpr.br - www.ceppa.ufpr.br - CEP 81531-990 - CURITIBA - PARANÁ

CERTIFICADO DE ANÁLISE Nº 88310

PRODUTO: IOGURTE – L2
FABRICANTE/PRODUTOR: Giovana Longo.
SOLICITANTE: O mesmo
ENDEREÇO: Centro Politécnico - Curitiba/PR
PROTOCOLO DE RECEPÇÃO DE AMOSTRA Nº 2016 – 21/11/05
AMOSTRA Nº 6174/05

RESULTADOS

01/01

Descrição do produto: amostra recebida refrigerada, acondicionada em 01 pote plástico opaco com volume aproximado de 80 mL.

PARÂMETROS FÍSICOS E QUÍMICOS

Lactose (g/100 g) I.L.D.

Obs.: I.L.D. - Inferior ao limite de detecção: 0,5 g/100 g.

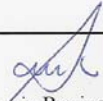
METODOLOGIA
AOAC. Official methods of analysis of AOAC international. 17.ed. Gaithersburg, 2000. 2 v. (Method 980.13).

Dados do ensaio:
Início: 28/11/05 Término: 30/11/05 Responsável: Eriel F. de Andrade.


Jeyson Moreira Train
Gerente Técnico
CRN 18833 – 3ª Região

/1

Curitiba, 01 de dezembro de 2005.


Marcia Regina Beux
CRBio 04907-03D
Coordenadora do Laboratório

OBSERVAÇÃO: • A PRESENTE ANÁLISE TEM SEU VALOR RESTRITO A AMOSTRA RECEBIDA PELO CEPPA.
• AS INFORMAÇÕES CONSTANTES NESTE CERTIFICADO DE ANÁLISE SÃO CONFIDENCIAIS E PERTENCENTES AO SOLICITANTE.
• É PERMITIDA A REPRODUÇÃO, DESDE QUE INTEGRALMENTE E SEM NENHUMA ALTERAÇÃO.



UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
SETOR DE TECNOLOGIA
CEPPA - CENTRO DE PESQUISA E PROCESSAMENTO DE ALIMENTOS
CENTRO POLITÉCNICO - PRÉDIO DAS USINAS PILOTO - BLOCO B - SALA PP01
CX. P. 19.083 - FONES: (41) 3366-3668 / 3361-3195 - FAX: (41) 3266-1647
e-mail: ceppa@ufpr.br - www.ceppa.ufpr.br - CEP 81531-990 - CURITIBA - PARANÁ

CERTIFICADO DE ANÁLISE Nº 88308

PRODUTO: IOGURTE – L3
FABRICANTE/PRODUTOR: Giovana Longo.
SOLICITANTE: O mesmo
ENDEREÇO: Centro Politécnico - Curitiba/PR
PROTOCOLO DE RECEPÇÃO DE AMOSTRA Nº 2016 – 21/11/05
AMOSTRA Nº 6175/05

RESULTADOS

01/01

Descrição do produto: amostra recebida refrigerada, acondicionada em 01 pote plástico opaco com volume aproximado de 84 mL.

PARÂMETROS FÍSICOS E QUÍMICOS

Lactose (g/100 g) 0,56

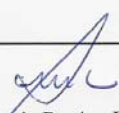
METODOLOGIA
AOAC. Official methods of analysis of AOAC international. 17.ed. Gaithersburg, 2000. 2 v. (Method 980.13).

Dados do ensaio:
Início: 28/11/05 Término: 30/11/05 Responsável: Eriel F. de Andrade.


Jeyson Moreira Train
Gerente Técnico
CRN 18833 – 3ª Região

/1

Curitiba, 01 de dezembro de 2005.


Marcia Regina Beux
CRBio 04907-03D
Coordenadora do Laboratório

OBSERVAÇÃO: • A PRESENTE ANÁLISE TEM SEU VALOR RESTRITO A AMOSTRA RECEBIDA PELO CEPPA.
• AS INFORMAÇÕES CONSTANTES NESTE CERTIFICADO DE ANÁLISE SÃO CONFIDENCIAIS E PERTENCENTES AO SOLICITANTE.
• É PERMITIDA A REPRODUÇÃO, DESDE QUE INTEGRALMENTE E SEM NENHUMA ALTERAÇÃO.

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ**

SETOR DE TECNOLOGIA

CEPPA - CENTRO DE PESQUISA E PROCESSAMENTO DE ALIMENTOS

CENTRO POLITÉCNICO - PRÉDIO DAS USINAS PILOTO - BLOCO B - SALA PP01
CX. P. 19.083 - FONES: (41) 3366-3668 / 3361-3195 - FAX: (41) 3266-1647
e-mail: ceppa@ufpr.br - www.ceppa.ufpr.br - CEP 81531-990 - CURITIBA - PARANÁ

CERTIFICADO DE ANÁLISE Nº 88312

PRODUTO: IOGURTE – LC

FABRICANTE/PRODUTOR: Giovana Longo.

SOLICITANTE: O mesmo

ENDEREÇO: Centro Politécnico - Curitiba/PR

PROTOCOLO DE RECEPÇÃO DE AMOSTRA Nº 2016 – 21/11/05

AMOSTRA Nº 6172/05

RESULTADOS

01/01

Descrição do produto: amostra recebida refrigerada, acondicionada em 01 pote plástico opaco com volume aproximado de 83 mL.

PARÂMETROS FÍSICOS E QUÍMICOS

Lactose (g/100 g) 2,11

METODOLOGIA

AOAC. Official methods of analysis of AOAC international. 17.ed. Gaithersburg, 2000. 2 v. (Method 980.13).


Dados do ensaio:

Início: 28/11/05 Término: 30/11/05 Responsável: Eriel F. de Andrade.


Jeyson Moreira Train
Gerente Técnico
CRN 18833 – 3ª Região

/1

Curitiba, 01 de dezembro de 2005.


Marcia Regina Beux
CRBio 04907-03D
Coordenadora do Laboratório

OBSERVAÇÃO: • A PRESENTE ANÁLISE TEM SEU VALOR RESTRITO A AMOSTRA RECEBIDA PELO CEPPA.
• AS INFORMAÇÕES CONSTANTES NESTE CERTIFICADO DE ANÁLISE SÃO CONFIDENCIAIS E PERTENCENTES AO SOLICITANTE.
• É PERMITIDA A REPRODUÇÃO, DESDE QUE INTEGRALMENTE E SEM NENHUMA ALTERAÇÃO.